

**PERAN PODOSITURI TERHADAP PENURUNAN LAJU
FILTRASI GLOMERULUS PADA PASIEN DIABETES
MELLITUS TIPE-2**

KARYA AKHIR

**Diajukan Dalam Melengkapi Tugas
dan Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan
Dalam Memperoleh Gelar Dokter Spesialis Penyakit Dalam**



**Penyusun :
Dr. Dyah Maya Sari**

**Pembimbing :
Dr. Nur Samsu, SpPD-KGH
Dr. Putu Moda Arsana, SpPD-KEMD**

**Program Pendidikan Dokter Spesialis I (PPDS-I) Ilmu Penyakit Dalam
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya-RSU Dr. Saiful Anwar
Malang-Indonesia
2014**

LEMBAR PENGESAHAN KARYA AKHIR

**PERAN PODOSITURI TERHADAP PENURUNAN LAJU FILTRASI
GLOMERULUS PADA PASIEN DIABETES MELLITUS TIPE 2**

Diajukan dalam Melengkapi Tugas dan untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Dokter Spesialis Penyakit Dalam

Oleh :

dr. Dyah Maya Sari
NIM. 108070200111004

Menyetujui:

Pembimbing I

Pembimbing II

dr. Nur Samsu, SpPD-KGH
NIP. 1968 0813 2003 121 001

dr. Putu Moda Arsana, SpPD-KEMD
NIP. 1956 0503 1984 031 008

Mengetahui:

Ketua Program Studi Ilmu Penyakit Dalam

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya-RSU dr.Saiful Anwar Malang

dr. Putu Moda Arsana, SpPD-KEMD
NIP. 1956 0503 1984 031 008

PERNYATAAN ORISINALITAS KARYA AKHIR

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah karya akhir ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata didalam naskah karya akhir ini dapat dibuktikan terdapat unsur plagiasi, saya bersedia karya akhir ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (dokter spesialis penyakit dalam) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Malang, Juli 2014

Mahasiswa,

Nama : Dyah Maya Sari

NIM : 108070200111004

PS : Ilmu Kedokteran

Prog. : PPDS-I

Fak. : Kedokteran UB

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur senantiasa kami panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga kami dapat menyelesaikan Karya Akhir di bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya/RSUD Dr. Saiful Anwar Malang.

Penelitian "**Peran Podosituri terhadap Penurunan Laju Filtrasi Glomerulus pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2**" ini kami susun sebagai satu syarat dalam menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis I (PPDS-I) Ilmu Penyakit Dalam di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya/RSUD Dr. Saiful Anwar Malang.

Ucapan terima kasih & penghargaan yang setinggi-tingginya kami sampaikan kepada semua pihak yang telah berjasa dalam menyelesaikan penelitian ini, terutama kepada:

1. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
2. Direktur RSUD dr.Saiful Anwar Malang.
3. dr. Budi Darmawan Machsoos, SpPD-KHOM, FINASIM selaku Ketua SMF/Kepala Laboratorium Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya/RSUD Dr. Saiful Anwar Malang.
4. dr.Nur Samsu,SpPD-KGH dan dr.Putu Moda Arsana,SpPD-KEMD sebagai pembimbing penelitian yang selalu memberikan arahan dan memotivasi, sehingga kami berhasil menyelesaikan penelitian ini.
5. dr.Putu Moda Arsana, SpPD-KEMD selaku Ketua Program Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Penyakit Dalam
6. dr.Djoko Heri Hermanto,SpPD-KHOM selaku Sekretaris Program Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Penyakit Dalam.

7. Prof.Dr.dr. Harijono Achmad, SpPD-KGEH, Prof.DR.Dr.Handono Kalim,SpPD-KR, Prof. Dr. dr. Djanggan Sargowo, SpPD,SpJP(K), Prof.Dr.Djoko Wahono Soeatmadji, SpPD-KEMD, Prof.DR.Dr.Achmad Rudijanto,SpPD-KEMD, dr. Gatoet Ismanoe, SpPD-KPTI, dr.Atma Gunawan,SpPD-KGH, dr.BP. Putra Suryana, SpPD-KR, dr. Niniek Budiarti,SpPD-KPTI, dr. Bogi Pratomo, SpPD-KGEH, dr.Supriono,SpPD-KGEH dr.C.Singgih Wahono,SpPD-KR, dr.Didi Chandradikusuma,SpPD, dr.Sinta Oktya Wardhani,SpPD, dr.Sri Sunarti,SpPD, dr.Laksmi Sasiarini,SpPD, dr. Gadis Nurlaila,SpPD, dr. Syifa Mustika, SpPD, dr. Rulli Rosandi, SpPD atas masukan dukungan serta saran dalam menyelesaikan karya akhir ini.
8. Ayahanda Drs. Hadi Subroto, ST,MM dan Ibunda Ratnawati, SE,MM, suami yang tercinta Burhanudin Yusuf, SE, buah hati kami M. Fathir Adibrata Yusuf serta saudara penulis Eka Widya A, SE. dan Alfi Huma I, SH. , Mayor Sunandar Wahyudi, AKP dr.Supono yang selalu ada, memberikan do'a dan dukungan secara lahir dan batin serta semangat yang luar biasa.
9. Teman-teman seperjuangan dr. Angela Merici, dr. Nur Rusyda, dr. Nicholas S, dr. Marthin H, dr. A. Rifai,dan seluruh teman-teman PPDS IPD serta seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang senantiasa mendukung dan bekerjasama selama masa pendidikan.

Penulis berharap semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu kedokteran dan kepentingan masyarakat. Penulis menyadari bahwa penelitian ini jauh dari kata sempurna, untuk itu penulis memohon maaf yang sebesar-besarnya dan berharap selanjutnya dilakukan penelitian dengan metode yang lebih baik.

Malang, Juni 2014

Penulis

ABSTRAK
**Peran Podosituri terhadap Penurunan Laju Filtrasi Glomerulus
pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2**

Dyah Maya Sari*, Nur Samsu**, Putu Moda Arsana***

Latar Belakang:

Nefropati diabetik (ND) merupakan penyebab utama terjadinya *end stage renal disease (ESRD)*. Pada saat awal ditegakkan diagnosa DMT2 pemeriksaan biopsi ginjal penting untuk dilakukan. Analisis *morphometric* pada biopsi ginjal menunjukkan penurunan jumlah podosit tidak hanya pada pasien dengan ND, tetapi juga pada pasien diabetes sebelum timbulnya mikroalbuminuria. Pemeriksaan sedimen urin juga mempunyai keuntungan dibanding biopsi, yaitu bersifat non-invasif dan dapat diulang dalam evaluasi terapi.

Tujuan:

Mengetahui hubungan antara podosituri dengan laju filtrasi glomerulus (*Glomerular Filtration Rate/GFR*) pada pasien DMT2.

Metode:

Rancangan pada penelitian ini menggunakan rancangan studi kohort retrospektif. Data awal diambil dari penelitian sebelumnya, data akhir diambil secara *cross sectional*. Subyek diabetes yang mengikuti penelitian pertama awal bulan Oktober 2010 dari total 53 subyek penelitian sebagai data awal, pada penelitian kedua ini terdapat 34 subyek sebagai data akhir pasien DM tipe-2 yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Analisis statistik menggunakan *oneway ANOVA* ($p < 0,05$).

Hasil:

Uji korelasi antara delta GFR (ΔGFR) dengan kadar podosituria menunjukkan hubungan yang signifikan, dimana semakin tinggi kadar podosituria akan diikuti oleh penurunan delta GFR (ΔGFR). Dari hasil uji regresi menunjukkan podosit mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap penurunan delta GFR (ΔGFR) (nilai koefisien regresi negatif). Pada derajat nilai akhir GFR subyek penelitian menunjukkan hubungan yang signifikan dengan rerata ekskresi podosituri dengan ($p=0.035$, dengan koefisien korelasi *Pearson* $r = -0,363$). Dari hasil uji regresi menunjukkan nilai koefisiensi regresi negatif artinya podosit mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap nilai akhir GFR. Selain itu, data karakteristik lama DM didapatkan perbedaan yang bermakna antara pasien dengan podosituria $< 4,685$ dan podosituria $> 4,685$ dengan nilai signifikansi $< 0,05$.

Kesimpulan:

Dari Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan podosituri berhubungan dengan GFR pada pasien DM tipe 2.

Kata Kunci:

Podosituri, laju filtrasi glomerulus, diabetes mellitus tipe 2, nefropati diabetik

**Peserta Program Pendidikan Spesialis-I Universitas Brawijaya Malang*

***Spesialis Penyakit Dalam, Konsultan Ginjal dan Hipertensi Universitas Brawijaya Malang*

**** Spesialis Penyakit Dalam, Konsultan Endokrin dan Metabolic Disease Universitas Brawijaya Malang*

ABSTRACT
**Role of Podocyturine to Decrease Glomerular Filtration Rate
in Patients with Type 2 Diabetes**

Dyah Maya Sari*, Nur Samsu**, Putu Moda Arsana***

Background:

Diabetic nephropathy (ND) is a major cause of end stage renal disease (ESRD). At the time of initial examination confirmed the diagnosis of T2DM is important to do a kidney biopsy. Morphometric analysis on renal biopsy showed a decrease number of podocyte not only in patients with ND, but also in diabetic patients before the onset of microalbuminuria. Examination of the urine sediment also has advantages over biopsy, which is non-invasive and can be repeated in the evaluation of therapies.

Objectives:

This study was to investigate the correlation between podocyturine with glomerular filtration rate (Glomerular Filtration Rate / GFR) in patients with type 2 diabetes.

Methods:

This study design using a retrospective cohort study. Preliminary data taken from previous studies, the data retrieved by cross sectional final. Diabetic subjects who followed the first study beginning in October 2010 from a total of 53 study subjects as preliminary data, in the second study with 34 subjects as final data type 2 DM patients who met the inclusion criteria and statistical eksklusi. Analisis using oneway ANOVA ($p < 0,05$).

Results:

The Correlation between delta GFR (Δ GFR) with podosituria levels showed a significant correlation, where the higher levels of podosituria will be followed by a decrease in delta GFR (Δ GFR). From the results of the regression test showed podocyturine have a significant effect on the decrease in delta GFR (Δ GFR) (negative regression coefficient). At the end of the degree of GFR values of study subjects showed a significant correlation with the mean excretion podocyturine ($p = 0.035$, with a Pearson correlation coefficient $r = -0.363$). From the results of the regression test showed a negative regression coefficient value means podocyturine have a significant effect on the final value of GFR. Moreover, the characteristic data obtained DM longer a significant difference between patients with podocyturine < 4.685 and podosituria > 4.685 with a significance value < 0.05 .

Conclusions:

The podocyturine had significantly correlation with GFR in patient with type 2 diabetes.

Keywords:

Podocyturine, Glomerular Filtration Rate, diabetes mellitus tipe 2, diabetic nephropathy

**Resident of Internal Medicine of Brawijaya University Malang*

***Internist-nephrologist of Brawijaya University Malang*

****Internist-endocrinologist of Brawijaya University Malang*

DAFTAR ISI

	Hal.
Halaman Judul	i
Lembar Pengesahan	ii
Pernyataan Orisinalitas Karya Akhir.....	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	vi
Abstract.....	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel	xii
Daftar Gambar	xiii
Daftar Lampiran.....	xiv
Daftar Singkatan.....	xv

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Hipotesis Penelitian.....	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anatomi Podosit.....	4
2.1.1 Struktur Anatomi.....	4
2.1.2 Struktur Molekuler.....	5
2.1.3 Fungsi Podosit.....	7
2.2 Kerusakan Podosit dan Respon terhadap Jejas	7
2.3 Mekanisme Kerusakan Podosit pada Diabetes Mellitus.....	10
2.3.1 Jalur Metabolik	11
2.3.2 Jalur Hemodinamik	13
2.4 Podositurin sebagai Petanda Aktifitas Penyakit	13

BAB III KERANGKA TEORI DAN KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Teori	15
3.2 Kerangka Konsep	16

BAB IV METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian	17
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	17
4.3 Populasi Penelitian	17
4.4 Persetujuan Penelitian	17
4.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi	18
4.6 Besar Sampel	18
4.7 Variabel Penelitian	18
4.8 Definisi Operasional	18
4.9 Metode Pemeriksaan Podosit dalam Urin	20

4.10 Analisa Statistik	22
4.11 Kerangka Kerja	22
4.12 Dummy Tabel.....	23
4.13 Dummy Scatter Plot.....	23
4.14 Jadwal Penelitian	23
4.15 Biaya Penelitian	24

BAB V HASIL PENELITIAN

5.1 Karakteristik Klinis & Laboratorium Subyek Penelitian	25
5.2 Hubungan Nilai <i>Delta Glomerular Filtration Rate</i> (ΔGFR) dengan Ekskresi Podosituri dan Subyek Penelitian Data Akhir	27
5.3 Hubungan Ekskresi Podosituri dengan Nilai Akhir <i>Glomerular Filtration Rate</i> (<i>GFR</i>).....	29
5.4 Analisa Ekskresi Podosituri pada Subyek Penelitian.....	30

BAB VI PEMBAHASAN

6.1 Karakteristik Klinis & Laboratorium Subyek Penelitian	32
6.2 Hubungan Nilai <i>Delta Glomerular Filtration Rate</i> (ΔGFR) dengan Ekskresi Podosituri dan Subyek Penelitian Data Akhir	32
6.3 Hubungan Ekskresi Podosituri dengan Nilai Akhir <i>Glomerular Filtration Rate</i> (<i>GFR</i>).....	35
6.4 Analisa Ekskresi Podosituri pada Subyek Penelitian.....	35

BAB VI PENUTUP

7.1 Kesimpulan.....	37
7.2 Kelemahan Penelitian.....	37
7.3 Saran.....	38

DAFTAR PUSTAKA	39
----------------------	----

DAFTAR TABEL

	Hal.
Tabel 2.3.1 Mediator dan Efeknya setelah Jejas pada Podosit	12
Tabel 5.1.1 Karakteristik klinis dari subyek penelitian.....	26
Tabel 5.1.2 Karakteristik laboratorium subyek penelitian.....	26
Tabel 5.2.2. Korelasi antara nilai delta <i>Glomerular Filtration Rate</i> (ΔGFR) dengan karakteristik klinis dan laboratorium subyek penelitian data akhir.....	28
Tabel 5.4.1. Analisa Ekskresi Podosituri pada Subyek Penelitian data akhir.....	31

DAFTAR GAMBAR

	Hal.
Gambar 2.1.1 Struktur Anatomi Ginjal	4
Gambar 2.1.2 Anatomi molekuler Sitoskeleton Aktin dan Foot Process (FP) podosit.....	5
Gambar 2.2 Penyebab Podositopenia pada ND	8
Gambar 2.3 Waktu perkembangan menjadi nefropati diabetes.....	11
Gambar 5.2.1 Grafik hubungan Δ GFR dengan kadar podosituria.....	27
Gambar 5.3 Grafik hubungan nilai akhir GFR dengan kadar podosituria.....	29
Gambar 5.4 Kurva ROC.....	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Keterangan Laik Etik (*Ethical Clearance*)

Lampiran 2 Penjelasan Mengikuti Penelitian

Lampiran 3 Informed Concern (Lembar Persetujuan Penelitian)

Lampiran 4

1. Criteria for the diagnosis of Diabetes Mellitus
2. Classification of Blood Pressure for Adults
3. The International Classification of Adult Underweight, Overweight
and Obesity according to BMI
4. Clinical Features of Heart Failure of Framingham Criteria for Diagnosis of
Heart Failure
5. Definition of Abnormalities in Albuminuria Excretion

Lampiran 5 Analisa Data Statistik

DAFTAR SINGKATAN

▪ ACE-i	: Angiotensin Convertizing Enzim-inhibitor
▪ ACR	: Albumin-Creatinin Ratio
▪ AER	: Albumin Excretion Rate
▪ ADA	: American Diabetes Association
▪ AGE's	: Advanced Glycation End-Products
▪ ARB	: Angiotensin-II Reseptor Blocker
▪ α -act-4	: α -actinin-4
▪ α 3 β 1-int	: α 3 β 1-integrin
▪ α -DG	: α -dystroglycans
▪ ANP	: Atrial Natriuretic Peptide
▪ BB	: Berat Badan
▪ BMI	: Body Mass Index
▪ BSA 1%	: Bovine Serum Albumine 1%
▪ CCB's	: Calcium Channel Blockers
▪ CDK	: Cyclin-Dependent Kinase
▪ CD2AP	: CD2 Associated Protein
▪ CKD-Epi	: Chronic Kidney Disease Epidemiology
▪ C-RP	: C-Reactive Protein
▪ DAG	: Diacylglycerol
▪ DL	: Darah Lengkap
▪ DMT2	: Diabetes Mellitus Tipe 2
▪ ECM	: Extra Cellular Matrix
▪ EGF	: Endothelial Growth Factor
▪ ELISA	: Enzym-Linked Immunosorbant Assay
▪ e-NOS	: endothelial-Nitric Oxide Synthetase
▪ ESRD	: End Stage Renal Disease
▪ ET-1	: Endothelin-1
▪ FPG	: Fasting Plasma Glucose
▪ FP	: Foot Processes
▪ FSGS	: Focal Segmental Glomerulosclerosis
▪ GBM	: Glomerular Basement Membrane
▪ GDP	: Glukosa Darah Puasa
▪ GFR	: Glomerular Filtration Rate
▪ GLEPP-1	: Glomerular Epithelial Cell Protein-tyrosine Phosphatase-1
▪ GNC	: Glomerulonephritis Chronic
▪ GNMP	: Glomerulonephritis Membranoproliferatif
▪ GSH	: Glutathione Reductase
▪ Hb	: Haemoglobine
▪ HbA _{1c}	: Glycated Haemoglobine A _{1c}
▪ HDF	: Human Diploid Fibroblast
▪ HDL	: High-Density Lipoprotein

- **hs-CRP** : **high specivity C- Reactive Protein**
- **HT** : **Hypertension**
- **IFG** : **Impaired Fasting Glucose**
- **IGF-1** : **Insulin-like Growth Factor-1**
- **IMT** : **Indeks Massa Tubuh**
- **ISK** : **Infeksi Saluran Kemih**
- **JNC-7** : **Joint National Committe-7**
- **LDL** : **Low-Density Lipoprotein**
- **LDH** : **Lactat dehidrogenase**
- **LFG** : **Laju Filtrasi Glomerulus**
- **lpb** : **lapang pandang besar**
- **lpk** : **lapang pandang kecil**
- **MCD** : **Minimal Change Disease**
- **MMP** : **Matrix Metalloproteinase**
- **NAD** : **Nicotinamide Adenine Dinucleotide**
- **NADP(H)** : **Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate**
- **Na⁺/H⁺ERF2**: **Na⁺/H⁺ Exchanger Regulatory Factor 2**
- **ND** : **Nefropati Diabetik**
- **NO** : **Nitric Oxide**
- **P** : **Paxillin**
- **PAN** : **Puromycin Amino Nucleosidase**
- **PBS-T 0.2%** : **Phospat Buffered Saline-T 0.2%**
- **P-cad** : **P-Cadherin**
- **PDGF** : **Platelet-derived Growth Factor**
- **PG** : **Prostaglandin**
- **PGTA** : **Penyakit Ginjal Tahap Akhir**
- **PK-C** : **Protein Kinase-C**
- **RAAS** : **Renin-Angiotensin Aldosterone System**
- **ROC** : **Receiver Operating Characteristic**
- **ROS** : **Reactive Oxygen Species**
- **SD** : **Slit-Diaphragm**
- **TB** : **Tinggi Badan**
- **TDD** : **Tekanan Darah Diastolik**
- **TDS** : **Tekanan Darah Sistolik**
- **TGF-β** : **Transforming Growth Factor-β**
- **UKPDS** : **The United Kingdom Prospective Diabetes Study**
- **UL** : **Urin Lengkap**
- **VEGF** : **Vascular Endothelial Growth Factor**
- **VLDL** : **Very-Low Density Lipoprotein**
- **ZO-1** : **Zona Occludens-1**

BAB I

LATAR BELAKANG

Nefropati diabetik (ND) merupakan penyebab utama terjadinya *end stage renal disease (ESRD)* yang sebagian besar terjadi pada Diabetes Mellitus Type 2 (DMT2) dan bertanggungjawab atas sebagian besar penyebab mortalitas dan morbiditas pasien dengan diabetes mellitus (DM)¹. Adanya sejumlah kecil albumin dalam urin atau mikroalbuminuria adalah prediktor untuk terjadinya ND.² Tetapi hubungannya dengan perkembangan gagal ginjal tidak jelas, karena adanya mikroalbuminuria tidak selalu menyebabkan gagal ginjal progresif dan dapat ditemukan pada pasien yang menjalani operasi besar terutama dengan komplikasi sepsis dan berhubungan dengan kondisi inflamasi yang lain termasuk rematik arthritis, *inflammatory bowel disease*.³ Pada Pima Indian didapatkan lebih dari 50% pasien mengalami proteinuria setelah 20 tahun menderita diabetes.⁴ ND merupakan penyebab utama untuk *renal replacement therapy* dengan insiden pada 44,3% dari 148 pasien yang mempunyai penyakit diabetes.⁴

Untuk dapat memahami faktor-faktor yang terkait terhadap resiko timbulnya ND, dimana pada tahap selanjutnya akan berkembang ke arah glomerulosklerosis, maka pada saat awal ditegakkan diagnosa DMT2 pemeriksaan biopsi ginjal penting untuk dilakukan.⁴ Analisis *morphometric* pada biopsi ginjal menunjukkan penurunan jumlah podosit tidak hanya pada pasien dengan ND, tetapi juga pada pasien diabetes sebelum timbulnya mikroalbuminuria.² Kerusakan dan hilangnya podosit merupakan faktor penting berkembang ke arah glomerulosklerosis.⁵ Podosit yang mengalami kerusakan dapat dideteksi dalam urin, dan dapat dipakai sebagai *biomarker* adanya kerusakan pada glomerulus.⁶

Berdasarkan penelitian Hara *et al.* sensitifitas dan spesifitas pemeriksaan podosituri dalam mendeteksi penyakit glomerulus lebih tinggi dibanding biopsi.⁷ Disamping itu, pemeriksaan sedimen urin juga mempunyai keuntungan dibanding biopsi, yaitu bersifat non-invasif dan dapat diulang dalam evaluasi terapi.⁷ Pada diabetes, podosit akan distimulasi oleh keadaan hiperglikemia dalam memproduksi berbagai sitokin dan beberapa *growth-factor* yang dapat menyebabkan perubahan struktur dan fungsi dalam *glomerular filtration barrier*.⁸ Sehingga apabila terjadi kerusakan pada podosit apapun penyebabnya, akan menimbulkan lesi ekstrakapiler glomerulus, seperti *adhesi* dan *crescent* yang merupakan faktor penting dalam berkembangnya kondisi *glomerulosclerosis focal* yang berujung pada percepatan menjadi gagal ginjal tahap terminal.⁷ Perubahan bentuk atau lepasnya podosit dapat terjadi pada *Minimal Change Disease* (MCD), *Nefropathy Membranosa*, FSGS, *Glomerulonephritis Chronic* (GNC) dan ND.⁹

Berdasarkan uraian diatas, pemeriksaan podosituri dapat lebih diandalkan dalam mendeteksi terjadinya ND secara lebih dini,¹⁰ dan dapat digunakan sebagai petanda dalam memperkirakan beratnya aktifitas penyakit, juga sebagai prediktor progresifitas penyakit.² Dengan demikian dalam pencegahan maupun terapi awal pada pasien DMT2, kita dapat menggunakan tingkat kerusakan podosit untuk mencegah progresifitas ND menjadi Penyakit Ginjal Tahap Akhir (PGTA). Atas dasar ini, maka penelitian yang dapat mengungkapkan terjadinya ND secara lebih dini penting untuk dilakukan.

1.2 Rumusan Masalah

Dari uraian diatas dirumuskan masalah dalam penelitian sebagai berikut :

Apakah podosituri berhubungan dengan penurunan laju filtrasi glomerulus pada pasien Diabetes Mellitus Type 2 ?

1.3 Hipotesis

Podosituri berhubungan dengan penurunan laju filtrasi glomerulus pada pasien Diabetes Mellitus Type 2

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Mengetahui peran podosituri terhadap terjadinya nefropati diabetik pada pasien Diabetes Mellitus Type 2.

1.4.2 Tujuan Khusus

1. Mengukur kadar podosituri pada pasien DMT2.
2. Mengukur laju filtrasi glomerulus pasien DMT2.
3. Mengetahui hubungan antara podosituri dengan laju filtrasi glomerulus pada pasien DMT2.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat Akademik

Hasil penelitian ini diharapkan akan meningkatkan pemahaman terhadap peran podosit pada patogenesis terjadinya Nefropati Diabetik pada pasien Diabetes Mellitus Type 2.

1.5.2 Manfaat Pelayanan

Meningkatkan pengetahuan dan kemampuan tenaga medis dalam upaya pencegahan penurunan laju filtrasi glomerulus pada pasien DMT2 yang berpotensi untuk berkembang menjadi ND, serta mampu mencegah progresifitas ND menjadi Penyakit Ginjal Tahap Akhir (PGTA)

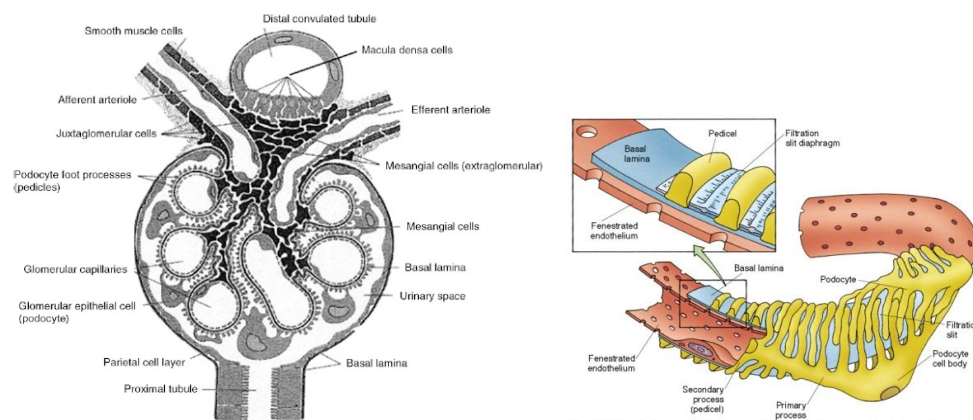
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anatomi Podosit

2.1.1 Struktur Anatomi

Podosit merupakan sel epitelial yang mengalami deferensiasi terminal dengan spesifikasi yang tinggi dan mempunyai morfologi selular yang kompleks. Podosit adalah sel epitel visceral dinding kapiler glomerulus yang mempunyai *foot processes (FP)* dan membentuk lapisan disekeliling kapiler.¹¹ Podosit secara embrio berasal dari sel mesenkimal. Tiap podosit yang matur mempunyai anatomi, fungsi dan komponen yang berbeda. *Cell body* (badan sel) merupakan pusat sel yang dasarnya terletak pada *urinary space*. Dari *cell body* tumbuh *primary processes* yang panjang yang diujungnya berupa FP. FP melekat pada GBM melalui integrin dan *dystroglycans*. Antar FP dari podosit tetangganya terjadi tumpang tindih atau *interdigitate*. Dari tumpang tindih antar FP membentuk *gap-junction* yang sangat spesifik yang disebut *slit-diaphragms (SD)* dengan ketebalan $\pm 6\text{nm}$ ²⁴, yang merupakan *size-barrier* utama terhadap kebocoran protein.¹²

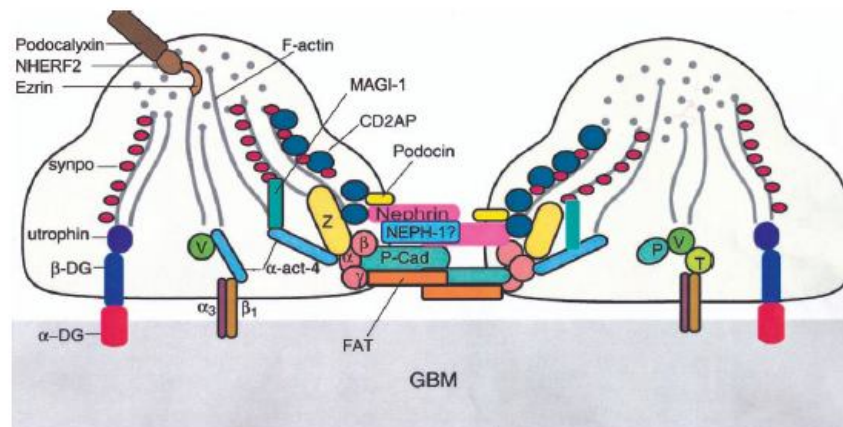


Gambar 2.1.1. Struktur Anatomi Glomerular Ginjal.¹³⁻¹⁵

2.1.2 Struktur molekular

Podosit adalah sel yang terpolarisasi. Secara molekular, FP podosit tersusun atas sistem kontraktile yaitu *actin*, *myosin-11*, *α -actinin-4*, *talin* dan *vinculin* yang berperan terhadap kontraktilitas podosit.¹⁶ Sitoskeleton aktin adalah yang paling banyak ditemukan, mempunyai peran sebagai tulang punggung podosit.¹² Fungsi sitoskeleton *actin* ini adalah memberikan bentuk sel yang unik (*statik*), dan mampu menimbulkan perubahan bentuk pada podosit secara terus-menerus (*dinamik*). Sitoskeleton *actin* berhubungan dengan protein-protein penyusun podosit yang lain, terutama protein-protein di domain basal.¹²

Berdasarkan anatomi molekularnya, podosit diklasifikasikan menjadi 3 domain yaitu: domain apikal, basal dan junctional.^{12, 16} Perubahan bentuk podosit disebut *effacement* yang dipengaruhi oleh peran protein yang kompleks dengan domain protein podosit yang berbeda. Masing-masing domain podosit terekspresi oleh protein-protein tertentu dengan fungsi yang berbeda-beda.¹⁶



Gambar 2.1.2. Anatomi molekuler Sitoskeleton Aktin dan Foot Process (FP) podosit. Gambar skematis diatas menunjukkan 2 FP podosit berdekatan dengan kompleks *Slit Diaphragm (SD)*. Sitoskeleton aktin merupakan jalur *down-stream* umum dan menerima input dari 3 domain podosit : domain luminal, domain lateral dan domain basal yang menghubungkan podosit dengan GBM. Gangguan pada 3 domain ini terutama akan menyebabkan *effacement* FP dan proteinurin. *α -act-4*, *α -actinin-4*, *$\alpha_3\beta_1$* , *$\alpha_3\beta_1$ -integrin*, *α -DG*, *α -dystroglycans*, *β -DG*, *β -dystroglycans*, *Na⁺/H⁺ ERF2*, *Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor 2*, P: Paxillin, P-cad, P-Cadherin, Synpo, Synaptopodin, T, Talin, V, Vinculin.¹⁶

a Apical Membran Domain. Terletak pada sisi luminal (permukaan *urinary space*) yang bermuatan negatif, karena adanya protein-protein anionik di permukaan, yaitu *podocalyxin*, *podoplanin* dan *podoendin*. Protein-protein bermuatan negatif ini berfungsi ganda, yaitu dapat membatasi lewatnya albumin yang juga bermuatan negatif dan mempertahankan jarak dengan podosit terdekatnya.¹² *Podocalyxin* disintesis oleh sel endothel glomerulus dan podosit, dan diinsersikan dalam sisi luminal dari membran. *Podocalyxin* berperan penting dalam menjaga perubahan negatif dari membran plasma podosit dan menjaga terbukanya saluran filtrasi.¹⁷ Protein yang penting pada membran luminal lain yaitu GLEPP-1, merupakan protein trans-membran *tyrosine phosphatase* yang diduga berperan terhadap regulasi tekanan glomerulus dan LFG melalui efeknya pada pengontrolan struktur FP podosit.^{9, 17}

b. Basal Domain. Sisi basal diperlukan untuk menancapkan podosit pada GBM dibawahnya. Arsitektur podosit yang unik ini dapat tetap dipertahankan, karena *adhesi* podosit pada GBM dikontrol secara ketat oleh ekspresi beberapa protein tertentu.¹⁸ FP podosit menancap pada GBM dibawahnya dengan perantara $\alpha 3 \beta 1$ -*integrin* dan α - dan β -*dystroglycan*.^{12, 17} $\alpha 3 \beta 1$ -*integrin* berhubungan dengan actin cytoskeleton podosit melalui paxilin, talin, vinculin, atau α -actinin.¹⁷ Status ikatan *integrin* dipengaruhi oleh organisasi sitoskeleton, sehingga berperan dalam menentukan bentuk dari FP.¹² Blokade terhadap domain ikatan $\beta 1$ -*integrin* dengan antibodi spesifik akan menyebabkan *effacement-FP*, terjadinya proteinurin dan *detachment* podosit dari GBM.¹⁷ Seperti halnya *integrin*, *dystroglycan* juga berhubungan dengan sitoskeleton aktin. Peningkatan atau penurunan ekspresi *dystroglycan* berkaitan dengan proses penyakit yang mendasarinya. Pada *Minimal Change Disease* (MCD) yang aktif, ekspresi *dystroglycan* sangat menurun sedangkan pada *Focal Segmental Glomerulosclerosis* (FSGS) tidak mengalami perubahan.¹²

c. Junctional Domain. Pada domain junctional meliputi *slit-diaphragms* (SD) yang merupakan kompleks protein di *extracellular space* yang menghubungkan FP.¹⁹ Protein-protein pada SD yang sudah diidentifikasi antara lain: *neprin*, *podocin*, *FAT-1*, *Neph-1*, 2 dan 3, *Zona Occludens-1 (ZO-1)*, *CD2 associated protein (CD2AP)* dan *densin*. SD berinteraksi dengan sitoskeleton FP podosit, yaitu melalui interaksi antara *neprin* dan *Neph-1* dalam SD dengan molekul adapter intraseluler yaitu *podocin*, *CD2AP*, *ZO-1*, *actinin-4* dan *catenin* yang terdapat dalam membran FP podosit.¹¹ Sitoplasmic dari *neprin* berikatan dengan *podocin*.¹⁹ *Podocin* berlokasi pada insersi SD dan berhubungan melalui domain C-terminal dengan *CD2AP* dan *neprin* dan berperan untuk memelihara integritas SD.¹¹ *Podocin* juga meningkatkan kemampuan *neprin* untuk mengaktivasi *mitogen-activated protein kinase cascade* pada sistem sel embrionik ginjal yang merekrut *neprin* kedalam *lipid raft*.¹⁷

2.1.3 Fungsi Podosit

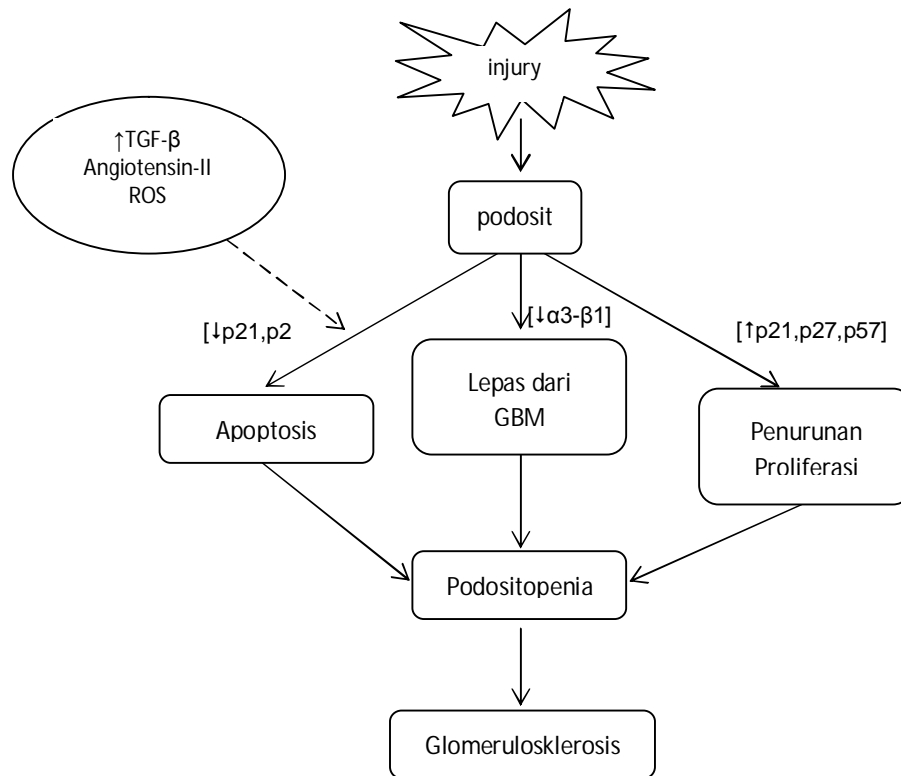
Secara garis besar fungsi spesifik podosit diklasifikasikan menjadi 6 yaitu ^{12, 19}1.) sebagai *size-barrier* terhadap protein; 2.) sebagai *charge-barrier* terhadap protein; 3.) peran dalam mempertahankan bentuk *capillary loop*; 4.) sebagai penyeimbang peningkatan tekanan intraglomerulus; 5.) fungsi dalam sintesis dan mempertahankan matriks GBM; dan 6.) memproduksi dan mensekresi VEGF yang diperlukan dalam integritas sel endothelial glomerulus. Sehingga tidak mengherankan jika terjadi gangguan pada satu atau lebih fungsi podosit akibat jejas akan menimbulkan proteinuria, biasanya *nephritic-range* dan seringkali disertai penurunan fungsi ginjal.

2.2 Kerusakan Podosit dan Respon terhadap Jejas

Menurut Kriz, mekanisme yang mendasari berkembangnya glomerulosklerosis adalah penurunan jumlah podosit. Dikarenakan podosit yang berada diluar GBM, dengan

salah satu fungsinya mempertahankan kapiler glomerulus dengan melawan tekanan hidrostatik kapiler. Penyebab kerusakan podosit secara umum dapat dikategorikan menjadi 4 (empat) yaitu :¹⁶ 1.) gangguan pembentukan pada kompleks SD; 2.) abnormalitas GBM atau *adhesi* podosit pada GBM; 3.) abnormalitas sitoskeleton aktin dan protein-protein terkait; serta 4.) perubahan pada domain membran luminal dari podosit, seperti netralisasi muatan negatif pada permukaan sel. Dari perspektif klinik, penyebab utama kerusakan podosit pada orang dewasa dengan predominan proteinuria meliputi FSGS, *nefropathy membranosa*, MCD, GNMP, *amyloid* dan ND.¹²

Adapun beberapa mekanisme terjadinya penurunan jumlah podosit yaitu:^{16, 19} 1.) Apoptosis, 2.) Pelepasan podosit dari GBM, 3.) Penurunan proliferasi.



Gambar 2.2. Penyebab Podositopenia pada ND, Setelah terjadi jejas, podosit mengalami apoptosis atau gagal berproliferasi. Kejadian ini akan menyebabkan podositopenia, yang berperan terhadap terjadinya glomerulosclerosis. Apoptosis dapat diakibatkan oleh peningkatan TGF- β , Angiotensin-II, ROS dan penurun penghambat Cyclin-dependent Kinase (CDK) p21 dan p27. $\alpha 3\beta 1$ -integrin berperan penting dalam terlepasnya podosit dari GBM.¹⁶

Mekanisme pertama adalah adanya apoptosis podosit yang didapatkan pada glomerular disease. Podosit yang terlepas dari GBM lebih mudah mengalami *apoptosis*. Menurut Bottinger, menunjukkan adanya apoptosis yang disertai dengan peningkatan TGF- β transgenic, dimana menyebabkan penurunan jumlah podosit dan glomerulosklerosis. Apoptosis podosit yang diinduksi oleh TGF- β dimediasi oleh jalur Smad dan tidak adanya *Cyclin-Dependent Kinase* (CDK) inhibitor p21 dan p27.¹⁶ Studi terbaru menurut Singhal menunjukkan peran angiotensin II (AngII) menginduksi apoptosis pada kultur podosit tikus. AngII menginduksi apoptosis, dikurangi dengan menghambat reseptor sub tipe I dan II.¹⁶ Mekanisme kedua adalah pelepasan podosit dari GBM. Dari studi Heyman pada membranous nephropathy dan ND pada tikus, didapatkan podosit pada urin yang diidentifikasi dengan *immunostaining spesific antibodi*, seperti nephrin, podosin dan Glepp-1. Mekanisme ketiga penurunan jumlah podosit juga ditunjukkan dari berkurangnya proses proliferasi setelah injuri. Proliferasi diatur oleh protein regulator pada siklus sel. Untuk proliferasi, siklus harus berikatan dan mengaktifkan *cyclin-dependent kinase* (CDK). Inaktif CDK dilakukan oleh CDK inhibitor, termasuk p21, p27, dan p57. Podosit berdiferensiasi bersamaan dengan peningkatan ekspresi p27 dan p57 CDK inhibitor pada podosit. Pada dasarnya podosit mampu bermitosis, tetapi mitosis dan pembelahan selnya tidak normal. Faktor lain yang mempunyai kontribusi terhadap berkurangnya kemampuan proliferasi podosit adalah peregangan mekanik.¹⁶ Penelitian menunjukkan bahwa apapun penyebabnya, jalur umum terhadap progresifitas *sclerosis glomerulus* adalah peningkatan tekanan dalam kapiler glomerulus, yang disebut *hipertensi glomerulus*.¹² Salah satu dampak adanya peningkatan tekanan intraglomerulus adalah peningkatan peregangan mekanik pada sel-sel glomerulus termasuk podosit.¹⁶ Pada kultur sel, peregangan mekanik pada sel mesangial akan mengaktifasi jalur-jalur *signaling* yang menyebabkan peningkatan proliferasi. Tetapi pada sel podosit dengan mekanisme yang belum jelas, peregangan mekanik ini justru akan

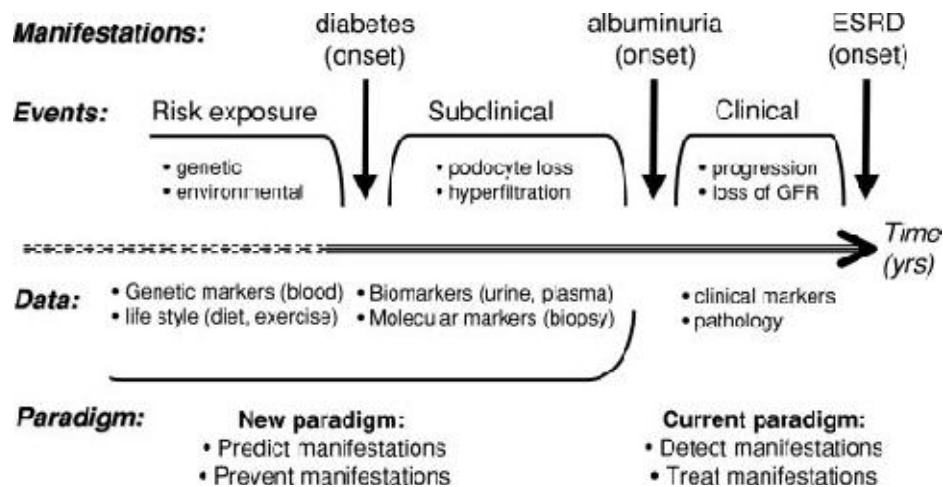
menurunkan proliferasi, sehingga terjadi penurunan jumlah sel podosit itu sendiri, dan bukan oleh karena *apoptosis*.¹² Efek selengkapnya dari beberapa mediator ini, baik terhadap podosit maupun GBM dapat dilihat pada tabel dibawah.

Apapun penyebab jejasnya, abnormalitas histologi podosit yang khas dan tampak dengan mikroskop elektron adalah *vacuolisasi*, *microcytic* atau *pseudocystic*, terdapatnya *inclusion bodies* dalam sitoplasma dan *detachment* dari GBM. Gambaran pada mikroskop-elektron ini tidak membedakan satu penyakit podosit dengan lainnya, hanya merepresentasikan jalur akhir umum respon podosit terhadap jejas. Pada gambaran mikroskop-elektron, podosit tampak mendatar dan *elongation*, FP mengalami pemendekan (sampai 70%) dan pelebaran (sampai 60%) dibanding normal. *Effacement* tidak spesifik terhadap satu penyakit, tetapi kesamaan dengan jejas pada podosit dari banyak penyebab. Jika tidak ada pemulihan setelah terjadinya jejas akan mengarah pada berkembangnya penyakit glomerulus yang berat. Selain *effacement*, jejas pada podosit dapat menyebabkan sel podosit mengalami proliferasi, terlepasnya podosit dari GBM dan kematian atau *apoptosis*. Karena podosit yang matur kemampuan regenerasi dan proliferasinya rendah, maka podosit yang tersisa tidak dapat menutup semua permukaan luar GBM, sehingga sel-sel *Epithelial Parietal Capsula Bowman's* mudah bertemu dengan GBM dan membentuk *adhesi* yang mengarah pada terbentuknya *scarring* glomerulus, hingga menyebabkan *Sclerosis Glomerulus Segmental* dan akibat lebih lanjut menjadi penyakit ginjal tahap akhir.¹²

2.3 Mekanisme Kerusakan Podosit pada Diabetes Mellitus

Nefropati diabetes adalah peningkatan ekskresi albumin secara progresif, diikuti dengan peningkatan tekanan darah, yang akhirnya mengarah ke penurunan filtrasi glomerulus

dan kondisi *end stage renal disease* (ESRD).²⁰ Insiden proteinuria pada pasien DM tipe 2 sama dengan pasien DM tipe 1.⁴



Gambar 2.3. Waktu perkembangan menjadi nefropati diabetes.²⁰

ND ternyata juga berkaitan dengan kerusakan podosit yang bermakna. Mekanisme patogenik terjadinya kerusakan sel-sel pada ginjal seperti halnya mekanisme terjadinya ND secara umum, yaitu melalui interaksi antara kelainan pada jalur metabolik dan jalur hemodinamik. Kelainan-kelainan tersebut mengakibatkan peningkatan sintesis sitokin, akumulasi matriks ekstraselular dan proteinurin. Sitokin yang meningkat antara lain: *TGF- β* , *PDGF*, *VEGF*, *IGF-1* dan *EGF*. *TGF- β* berperan penting pada terjadinya akumulasi matriks ekstraselular, melalui peningkatan sintesis matriks ekstraselular dan penghambatan degradasinya.⁸

2.3.1 Jalur Metabolik.²¹ Kondisi hiperglikemi menginduksi terjadinya apoptosis, dimana apoptosis podosit mempengaruhi jumlah podosit.² Pada kultur podosit didapatkan hiperglikemia, *TGF- β* , AngII menginduksi apoptosis. *Reactive Oxygen Species*(ROS) juga mempengaruhi terjadinya apoptosis dan deplesi pada sel yang hiperglikemia dan didapatkan pada penelitian dengan ND. Terdapat banyak proses intraselular yang terjadi akibat kondisi glukosa yang tinggi, meliputi peningkatan masuknya *poliol* dan *hexosamin*, pembentukan *AGE's* dan ROS, aktivasi *PK-C*, *TGF- β* dan *signaling G-protein*, perubahan ekspresi *Cyclin Kinase*, matriks protein dan penghambatnya, enzim yang mendegradasi matriks, serta

Metalloproteinase (MMP) dan penghambatnya. Peningkatan metabolisme glukosa melalui jalur poliol akan menyebabkan 'stress' osmotik akibat akumulasi sorbitol, penurunan *Na/K ATP-ase*, peningkatan rasio $NADH^+/NAD^+$ dan penurunan $NADPH^+$. Berkurangnya $NADPH^+$ menyebabkan terhambatnya pembentukan *glutation* tereduksi (*GSH*) yang bersifat anti-oksidan, sehingga memudahkan terjadinya 'stress-oksidatif'.

Aktifitas *PK-C* yang meningkat akan menyebabkan terjadinya penekanan terhadap ekspresi *m-RNA e-NOS*, sehingga produksi *NO* akan berkurang, meningkatnya aktifitas *endothelin-1* dan permeabilitas sel endothel serta akan menginduksi ekspresi *TGF-β* sehingga terjadi peningkatan sintesa matriks ekstraselular. Proses glikasi akan menghasilkan *AGE's*, mengganggu fungsi protein intraselular dan matriks ekstraselular. Ikatan *AGE's* dengan reseptor *AGE's* di sel-sel glomerulus akan menyebabkan terbentuknya *ROS*, peningkatan sintesa *TGF-β* dan matriks ekstraselular. Proses glikasi pada matriks mesangial akan menyebabkan menurunnya jumlah dan kemampuan *MMP* yang disekresikan oleh sel mesangial dan podosit untuk mendegradasi matriks ekstraselular. 'Stress-oksidatif' pada DM tipe-2 juga berkaitan erat dengan mekanisme kerusakan yang diperantarai oleh kondisi hiperglikemia diatas. *ROS* akan menghambat aktifitas *Gliseraldehida 3-Phosphat Dehidrogenase* sehingga terjadi akumulasi *Gliserilhide 3-Phosphat* serta komponen jalur *Glycolysis* yang lebih proksimal yang pada akhirnya akan meningkatkan proses jalur poliol, pembentukan *AGE's*, aktivasi *PKC* dan jalur heksosamin.

Tabel 2.3.1 Mediator dan Efeknya setelah Jejas pada Podosit^{12, 18}

Mediator dari podosit	Efek
Reactive Oxygen Species (ROS)	Terbentuknya lubang-lubang pada GBM Apoptosis podosit Kerusakan NDA podosit Effacement Peroksidase lipid dan protein
Angiotensin-II	Apoptosis podosit Hipertrofi podosit Peningkatan kadar $TGF-β$ → akumulasi matriks Peningkatan kadar VEGF → akumulasi matriks Penurunan kadar nephrin Peningkatan kadar p27, IP-8 dan IP-10

Metalloproteinase	Perubahan dalam matriks GBM Gangguan kompleks nephrin-NEPH2
Mechanical stretch	Detachment podosit Apoptosis podosit Hambatan proliferasi podosit Hipertrofi podosit
TGF- β	Peningkatan protein matriks → penebalan GBM Apoptosis podosit Peningkatan metalloproteinase (MMP)
VEGF	Peningkatan kadar TGF- β Peningkatan produksi kolagen $\alpha 3(IV)$ oleh podosit

2.3.2 Jalur Hemodinamik , ²¹ Mekanisme jalur hemodinamik terhadap kerusakan podosit pada DM adalah akibat *stress-tension* sebagai akibat peningkatan tekanan intraglomerulus. Hiperfusi dan hiperfiltrasi glomerulus merupakan tanda awal yang disebabkan oleh penurunan resistensi dari *arteriole-afferent* dibandingkan *arteriole-efferent*.

Perubahan resistensi arterioli ini akan memudahkan penghantaran tekanan darah sistemik ke glomerulus. Faktor-faktor yang menyebabkan relaksasi *arteriole-afferent* adalah *Atrial Natriuretic Peptide (ANP)*, *Nitric Oxide (NO)* dan *Prostaglandin (PG)*; sedangkan faktor-faktor yang menyebabkan konstriksi *arteriole-efferent* adalah *Angiotensin-II*, *Endothelin* dan *Prostanoid*. Pada DM didapatkan aktivasi sistem *renin-angiotensin* intrarenal. *Angiotensin* disamping berperan dalam menimbulkan peningkatan tekanan glomerulus juga mampu menstimulasi sel mesangial, *fibroblast interstitial* dan epitel tubulus proksimal dan sel podosit untuk memproduksi *TGF- β* . Perubahan hemodinamik ini terjadi secara langsung melalui efek tekanan terhadap sel podosit ataupun melalui *renin-angiotensin* yang akan menstimulasi produksi *TGF- β* , yang selanjutnya akan menimbulkan akumulasi matriks ekstraselular dan merusak sawar darah-urine.

2.4 Podosituri sebagai Petanda Aktifitas Penyakit.

Penelitian yang dilakukan oleh Hara *et al.* menunjukkan bahwa ekskresi podosit pada pasien *glomerulonephritis* tampaknya berkorelasi dengan aktifitas penyakit, yang dinilai dengan beratnya proteinuria dan hematuria. Hal ini mengesankan bahwa kondisi tersebut

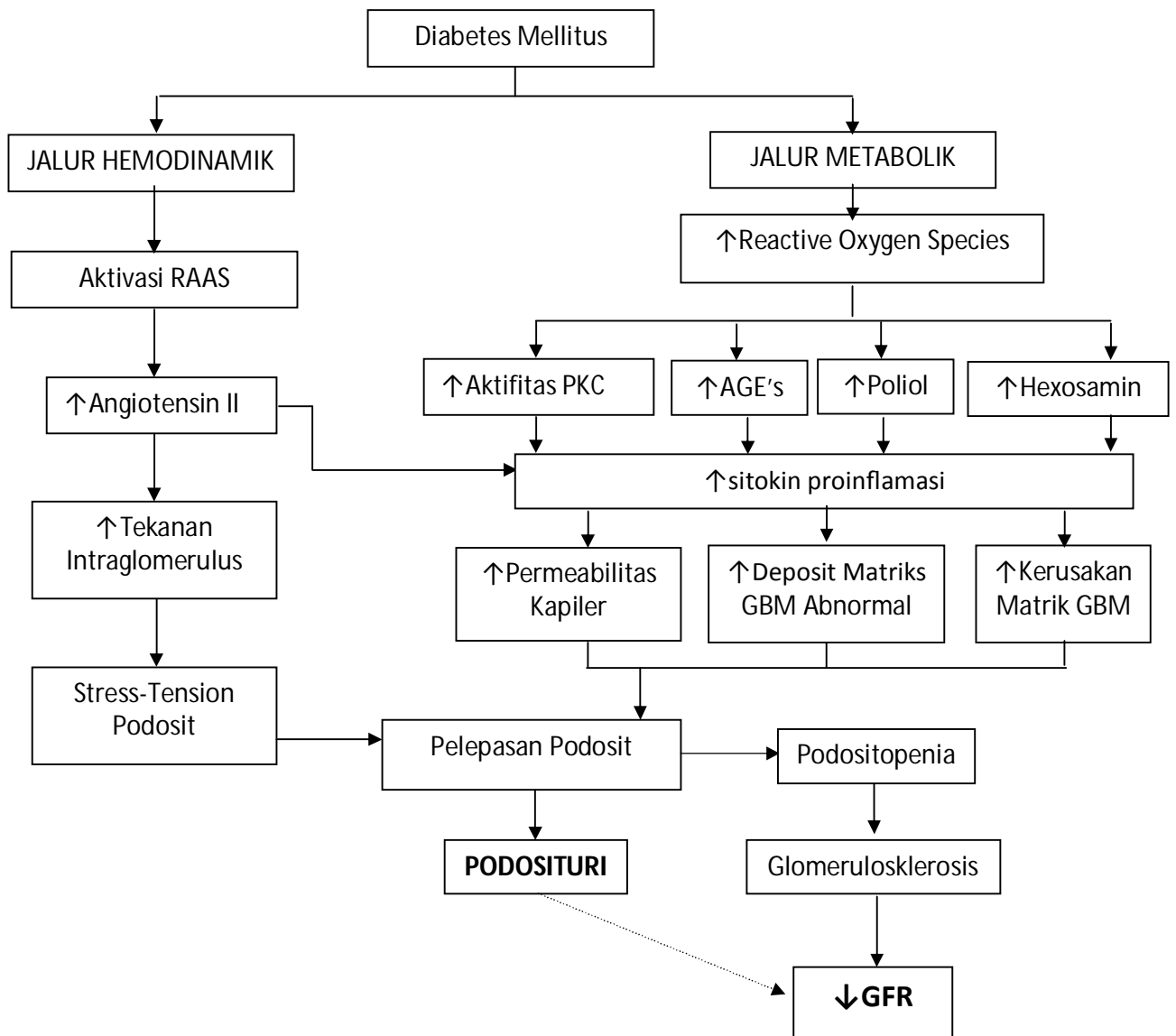
merefleksikan aktifitas penyakit. Dalam penelitiannya untuk mempelajari ekskresi podosit yang masih hidup, Yu *et al.* menggunakan 2 (dua) model jejas glomerulus yang bersifat *transient*, yaitu model pertama adalah tikus nephrosis yang diinduksi oleh *Puromycin Aminonukleosida* (PAN) dan *glomerulonefritis mesangioproliferatif anti-Thy 1.1*, dan model lain berupa jejas glomerulus yang kontinyu, yaitu *Nephropathy Hypertension*. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa, kehilangan podosit lewat urin yang terjadi pada tikus PAN mendahului onset proteinurin. Yang lebih penting lagi, proteinurin tetap persisten meskipun terjadi remisi podosituri. Podosituri juga terjadi pada *Nefritis anti-Thy 1.1*. pada model ini, jejas primer yang sangat selektif terhadap sel-sel mesangial akan menyebabkan kerusakan pada sel-sel tersebut diikuti oleh dilatasi kapiler dan *microaneurysma intraglomerulus* setelah 3 sampai 4 hari. Semua kondisi ini mempunyai kontribusi terhadap kerusakan podosit sekunder melalui perubahan fisik, misalnya peregangan dan atau potensi perubahan biokimia dari GBM yang normal dalam perjalanan penyakit. Pada bentuk jejas yang kontinyu, podosituri yang terjadi tidak pernah berkurang. Meskipun derajat pelepasan podosit bervariasi, tidak didapatkan penurunan hitung podosit glomerulus.²²

Berdasarkan pengamatan diatas menunjukkan bahwa, deteksi proteinurin tidak dapat membedakan antara defek persisten pada *barrier-glomerulus* dan jejas yang sedang terjadi, sedangkan podosituri lebih spesifik terhadap jejas yang ‘aktif’.²²

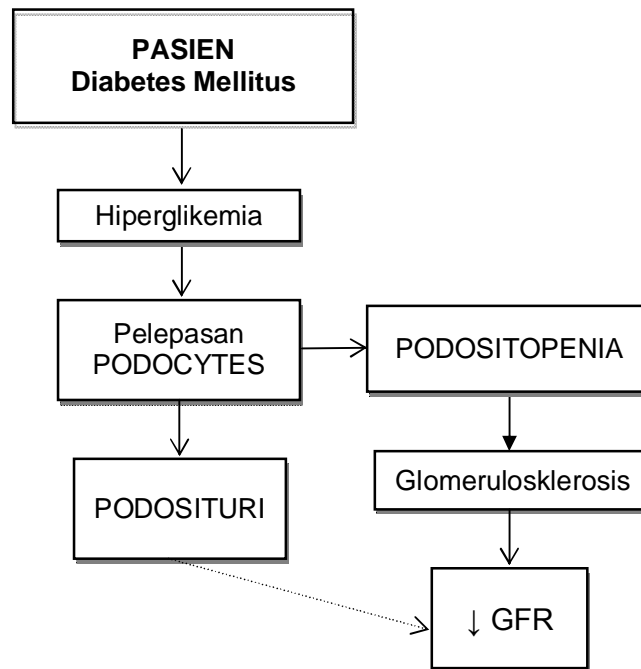
BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Teori



3.2 Kerangka Konsep



BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan pada penelitian ini menggunakan rancangan studi kohort retrospektif. Data awal diambil dari penelitian sebelumnya, data akhir diambil secara *cross sectional*. Hasil penelitian ditampilkan dalam bentuk deskriptif dan analisis regresi.

4.2 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Poliklinik Rawat Jalan Ginjal-Hipertensi dan Endokrin-Metabolik Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar Malang dari bulan Oktober 2010 sampai dengan bulan Desember tahun 2013.

4.3 Populasi Penelitian

Populasi sampel adalah pasien DM tipe-2 yang mengikuti penelitian sebelumnya dan mempunyai usia 40-60 tahun dan kadar kreatinin $<1,5$ mg/dL serta bersedia ikut penelitian dengan menandatangani *informed consent*. Subjek penelitian direkrut dengan metode sampling konsekutif.

4.4 Persetujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar Malang (*Lampiran 1*).

Semua sampel pada penelitian ini akan diberikan informasi penelitian dan menandatangani lembar '*informed consent*' (*Lampiran 2 dan 3*).

4.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

4.5.1 Kriteria Inklusi

Pasien DM tipe 2 dengan usia 40-80 tahun, kadar kreatinin serum <1,5 mg/dL

4.5.2 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi penelitian ini meliputi pasien DM tipe-2 yang sedang demam atau menderita panas badan, gagal jantung kongestif, infeksi saluran kemih, pyuria dan hematuria, penyakit ginjal non-diabetes, hipertensi, sedang mendapat terapi penghambat *ACE* dan atau *ARB*.

4.6 Besar Sampel

Dipergunakan rumus untuk koefisien korelasi dengan sampel tunggal²³:

$$n = \left[\frac{z\alpha + z\beta}{0,5 \ln [(1 + r) / (1 - r)]} \right]^2 + 3$$

dengan tingkat kemaknaan sebesar 0,05 dan power 80%, $z\alpha=1,645$, $z\beta=0,842$, $r=0,44$, maka dengan rumus penghitungan diatas didapatkan besar sampel minimal $n = 30,74 = 31$ sampel.

4.7 Variabel Penelitian

- Variabel Independen : podosituri
- Variabel Dependen : laju filtrasi glomerulus

4.8 Definisi Operasional

- *Diabetes Mellitus* tipe-2 adalah pasien yang memenuhi kriteria diagnosis *Diabetes Mellitus* berdasarkan kriteria *American Diabetic Association* (ADA) tahun 2013.²⁴

- *Indeks Massa Tubuh* (IMT) atau *Body Mass Index* (BMI) diukur berdasarkan kriteria WHO, dengan menggunakan parameter BB dan TB relative (*Lampiran 4, Tabel 4.2*), dengan memakai rumus perhitungan:²⁵

$$\text{IMT} = \frac{\text{Berat Badan}}{\text{Tinggi Badan}^2} \text{ (kg)/(m)}^2$$

- Hipertensi adalah bila pada pemeriksaan tekanan darah didapatkan TD sistolik ≥ 140 mmHg dan atau didapatkan TD diastolik ≥ 90 mmHg sesuai dengan kriteria JNC-7.²⁶
- Gagal Jantung Kongestif adalah ditemukannya gejala dan tanda gagal jantung kiri dan kanan yang ditegakan secara klinis pada anamnesa dan pemeriksaan fisik sesuai kriteria Frammingham.²⁷
- Ekskresi albuminurin adalah pemeriksaan urin sewaktu dengan menghitung rasio albumin terhadap kreatinin (ug albumin/mg kreatinin), dikategorikan dalam normoalbuminurin bila nilai rasio < 30 ug/mg, Mikroalbuminurin bila nilai rasio antara $30-300 \mu\text{g/mg}$, dan Makroalbuminurin bila nilai rasio $> 300 \text{ ugr/mg}$.²¹
- Nephropathy Diabetes adalah sindrom klinis pada pasien diabetes melitus yang ditandai dengan albuminuria menetap ($> 300 \text{ mg/jam}$) pada minimal 2 kali pemeriksaan dalam kurun waktu 3 sampai 6 bulan.²¹
- Hematuria adalah ditemukannya sel darah merah (eritrosit) dalam urin pada pemeriksaan laboratorium, baik secara makroskopis ('*gross-hematuria*') ataupun secara mikroskopis. Normal eritrosit dalam urin adalah ≤ 2 /lapang pandang kecil, atau < 3 /lapang pandang besar.²⁸

- Pyuria adalah apabila didapatkan jumlah leukosit dalam pemeriksaan urin $>5/\text{lpb}^{28}$, Hasil pemeriksaan laboratorium disebut normal untuk sel darah putih (leukosit) dalam urine adalah $\leq 4/\text{lapang pandang kecil}$ dengan bakteri negatif.²⁸
- Infeksi saluran kemih (ISK) ditegakan berdasarkan gejala klinis dan pemeriksaan laboratoris. ISK simptomatis ditandai oleh *frequency, urgency, dysuria, flank-pain, mual-muntah* dan *suprapubic discomfort*⁴³. Secara mikrobiologis, infeksi saluran kemih ditandai dengan ditemukannya mikroorganisme patogen dalam urin dan ditemukan sel darah putih secara bermakna.²⁹
- Febris adalah apabila pada pemeriksaan suhu ketiak pasien $>37.5\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Podosit dalam urin adalah pemeriksaan jumlah podosit dalam sample urin setelah dilakukan pengecatan dengan *Antibody-podocalyxin*, dan dinyatakan sebagai rasio terhadap kreatinin urin (jumlah rerata ekskresi podosit/mg kreatinin).
- Podositopenia adalah penurunan jumlah podosit diglomerulus.^{30, 31}
- Laju Filtrasi Glomerulus (Glomerular Filtration Rate/GFR) adalah laju rata-rata penyaringan darah yang terjadi diglomerulus untuk menilai fungsi ginjal dan dihitung dengan menggunakan rumus CKD-EPI Study.^{32, 33}

Wanita

$$\text{kreatinin} < 0.7 \text{ mg/dL: GFR (mL/min/1.73 m}^2\text{)} = 144 \times \text{SCr}/0.7^{-0.329} \times 0.993^{\text{umur}}$$

$$\text{kreatinine} > 0.7 \text{ mg/dL: GFR (mL/min/1.73 m}^2\text{)} = 144 \times \text{SCr}/0.7^{-1.209} \times 0.993^{\text{umur}}$$

Laki-laki:

$$\text{kreatinin} < 0.9 \text{ mg/dL: GFR (mL/min/1.73 m}^2\text{)} = 141 \times \text{SCr}/0.9^{-0.411} \times 0.993^{\text{umur}}$$

$$\text{kreatinin} > 0.9 \text{ mg/dL: GFR (mL/min/1.73 m}^2\text{)} = 141 \times \text{SCr}/0.9^{-1.209} \times 0.993^{\text{umur}}$$

4.9 Metode Pemeriksaan Podosit dalam Urin

- Sampel urin segar sebanyak 20-100 ml disentrifus pada 3000 rpm selama 10 menit

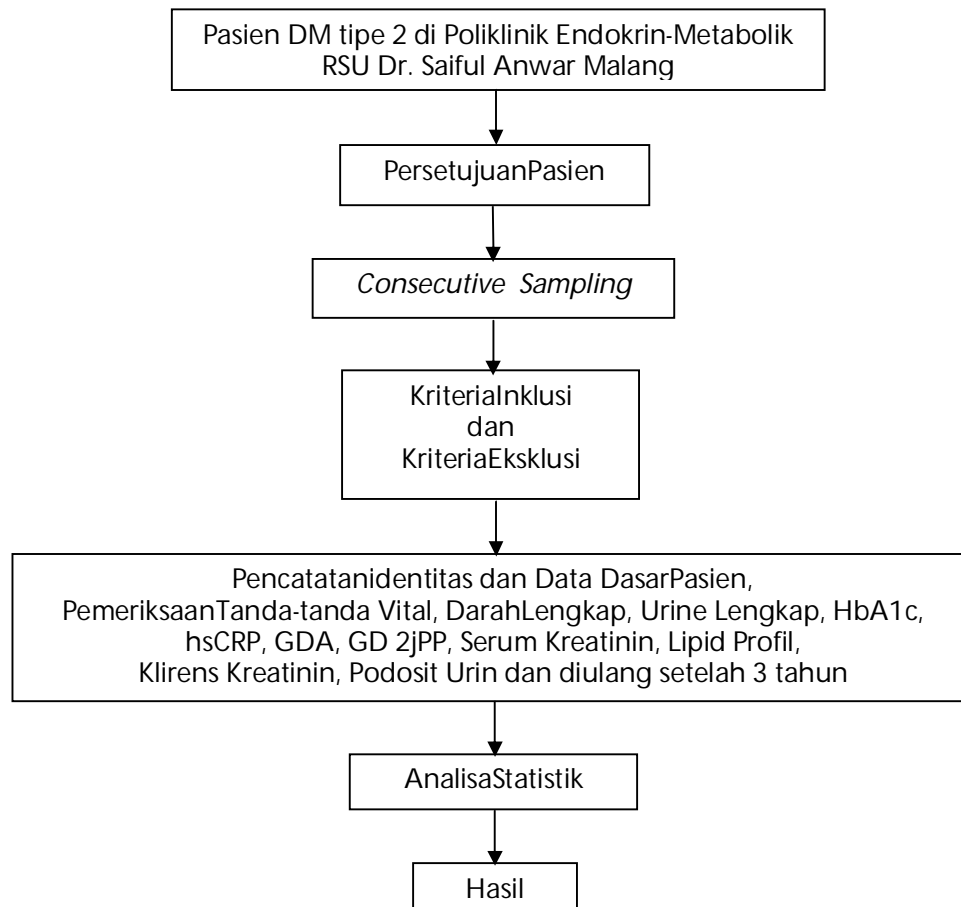
- Supernatan diaspirasi secara hati-hati dan pellet sedimen dicuci sebanyak 2 kali dengan larutan human diploid fibroblast (HDF) (air destilata, 137 mM NaCL, 5 mM KCl, 5,5 mM glukosa, 4 mM NaHCO₃ dan 0,2% EDTA)
- Pellet diambil kemudian diencerkan dengan Coating-Buffer dengan perbandingan Antigen:Coating-Buffer=1:20
- Sampeldimasukankedalam ELISA micro-plate sebanyak 100uL
- Sampeldiinkubasiselama 24 jam padasuhu 4 °C
- Setelah 24 jam, dicuci dengan PBS-T (Phospat Buffered Saline-T 0.2%) sebanyak 3 kali, @ selama 3 menit
- Blocking dengan BSA (Bovine Serum Albumine 1%) lalu diinkubasi selama 30 menit
- Dicuci dengan PBS-T (Phospat Buffered Saline-T 0.2%) sebanyak 3 kali, @ selama 3 menit
- Ditambahkan Antipodocalyxin (Ab-primer) dengan perbandingan 1:500, lalu diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruang.
- Dicuci dengan PBS-T (Phospat Buffered Saline-T 0.2%) sebanyak 3 kali, @ selama 3 menit
- DitambahkanAntibody-Antipodocalyxin (Ab-sekunder) dengan perbandingan 1:1000, lalu diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruang.
- Dicuci dengan PBS-T (Phospat Buffered Saline-T 0.2%) sebanyak 3 kali, @ selama 3 menit
- Ditambahkan enzim Sav-HRP dengan perbandingan 1:1000, lalu diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruang
- Ditambahkan substrat 'Sure-Blue TMB', lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang

- Stop reaksi dengan menambahkan HCl 0.1 N, lalu diinkubasi selama 15 menit
- Dimasukan ke dalam ELISA-Reader dan dibaca pada $\lambda=450$ nm

4.10 Analisa Statistik

Data diuji normalitasnya dengan uji kolmogorov-Smirnov, apabila distribusi normal maka dilakukan uji beda dengan uji statistik parametric ANOVA dan jika perbedaannya bermakna maka dilakukan uji statistik post Hock. Apabila distribusi data tidak normal maka dilakukan uji statistik non-parametrik Wilcoxon dan jika bermakna maka dilakukan uji statistik Mann-Whitney. Dilakukan uji regresi untuk mendapatkan nilai resiko relatif podosituria terhadap penurunan laju filtrasi glomerulus.

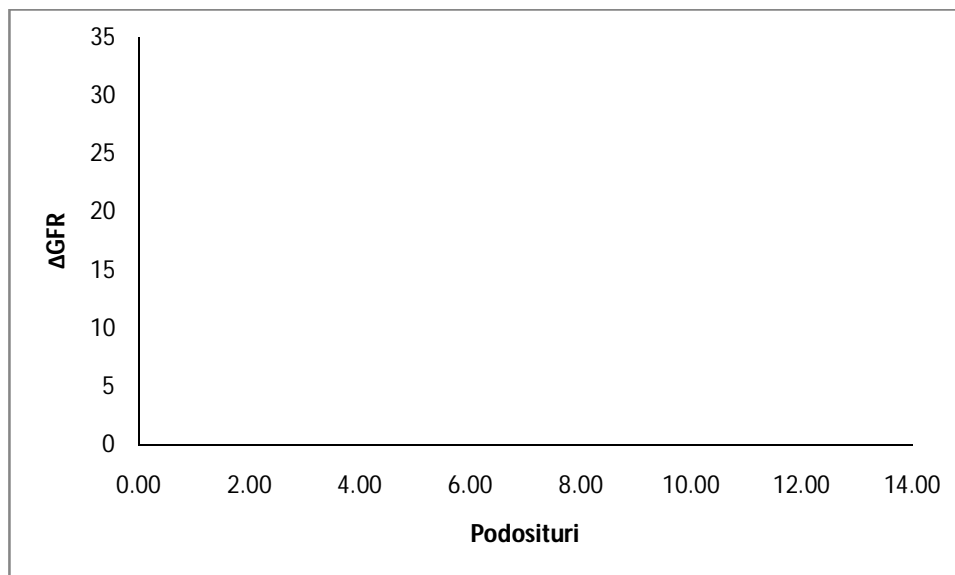
4.11 Kerangka Kerja



4.12 Dummy Tabel

Sampel	Nilai podosituria	GFR awal	GFR setelah 3 tahun	Δ GFR	Dst
1					
2					
3					
4					
5					
6					
Dst					

4.13 Dummy Scatter Plot



4.14 Jadwal Penelitian

Aktifitas	April 2009- Des 2012	Jan	Feb	Mar	April	Mei	Juni	Juli	Agst	Sept	Okt	Nop	Des 2013
Proposal	▲▲												
Pengumpulan Data	▲▲	▲ ▲	▲ ▲	▲▲	▲▲	▲▲							
Analisa Data							▲▲	▲▲	▲▲	▲▲	▲▲	▲▲	
Penulisan Laporan											▲▲	▲▲	▲▲
Presentasi													▲▲

4.15 Anggaran Biaya

No.	Pemeriksaan atau bahan	Volume	Biaya Satuan (Rp)	Jumlah Biaya (Rp)
1	Anti-podocalyxin	1 kit	9.000.000	9.000.000
2	Hs-CRP	36 pasien	43.000	1.548.000
3.	HbA1C	36 pasien	135.000	4.860.000
4	Klirens kreatinin ukur	36 pasien	75.000	2.700.000
5	Ekskresi albumin	36 pasien	25.000	9.000.000
6	Urin lengkap	36 pasien	25.000	9.000.000
7	ATK	-	-	5.000.000
8	Transport	36 pasien	25.000	9.000.000
9	Lain-lain	-		1.000.000
Jumlah biaya				22.308.000

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Karakteristik Klinis dan Laboratorium Subyek Penelitian

Pada penelitian ini subyek penelitian adalah pasien yang didiagnosa Diabetes Mellitus tipe-2 berdasarkan kriteria *American Diabetic Association (ADA)* yang berobat di Poliklinik Rawat Jalan Endokrin-Metabolik Rumah Sakit Umum Dr.Saiful Anwar Malang pada bulan Oktober 2010 sampai dengan bulan Desember tahun 2013. Subyek diabetes yang mengikuti penelitian pertama awal bulan Oktober 2010 dari total 53 subyek penelitian sebagai data awal, pada penelitian kedua ini terdapat 34 subyek sebagai data akhir yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi penelitian. Sebanyak 19 subyek tidak masuk dalam penelitian karena tidak memenuhi kriteria penelitian. Semua subyek dalam penelitian mengikuti prosedur yang ditetapkan dalam penelitian dan menyetujui serta menandatangani *informed consent* yang diberikan. Pada karakteristik dasar pasien dilakukan uji normalitas (lampiran 5) menunjukkan tidak berdistribusi normal yang artinya sampel penelitian ini belum dapat mewakili dengan populasi normal. Karakteristik klinis dari subyek pada penelitian ini terangkum pada tabel 5.1.1 berikut ini:

Tabel 5.1.1 Karakteristik klinis dari subyek penelitian

Karakteristik klinis	Data Awal (n=53)	Data Akhir(n=34)
	rerata±SD	atau %
Usia (tahun)	56±8,04 (42-74)	57±10 (45-74)
Lama menderita DM (bulan)	72,3±60,2 (1-276)	71,7±69,3 (1-276)
Berat badan (kg)	57,2±6,5 (40-89)	62,9±11,7 (40-89)
Tinggi badan (cm)	156±8 (142-178)	156,4±7,6 (142-178)
Indeks massa tubuh (kg/m ²)	23,5±1,5 (18-36,8)	25,7±4,2 (18-36,8)
Normal	17(32,1%)	17 (50%)
Overweight	36 (67,9%)	13 (38,2%)
Obese I		2 (5,8%)
Obese II		2 (5,8%)
TD sistolik (mmHg)	121,5±13,4 (90-138)	136,3±18,3 (100-160)
Normal	22 (41,5%)	9 (26,4%)
Pre-hipertensi	31(58,5%)	6 (17,6%)
Hipertensi st 1		12 (35,2%)
Hipertensi st 2		7 (20,5%)
TD diastolik (mmHg)	76,3±8,5 (70-100)	85±8,7 (70-100)
Normal	36 (67,9%)	4 (11,7%)
Pre-hipertensi	17 (32,1%)	14 (41,1%)
Hipertensi st 1		12 (35,3%)
Hipertensi st 2		4 (11,7%)

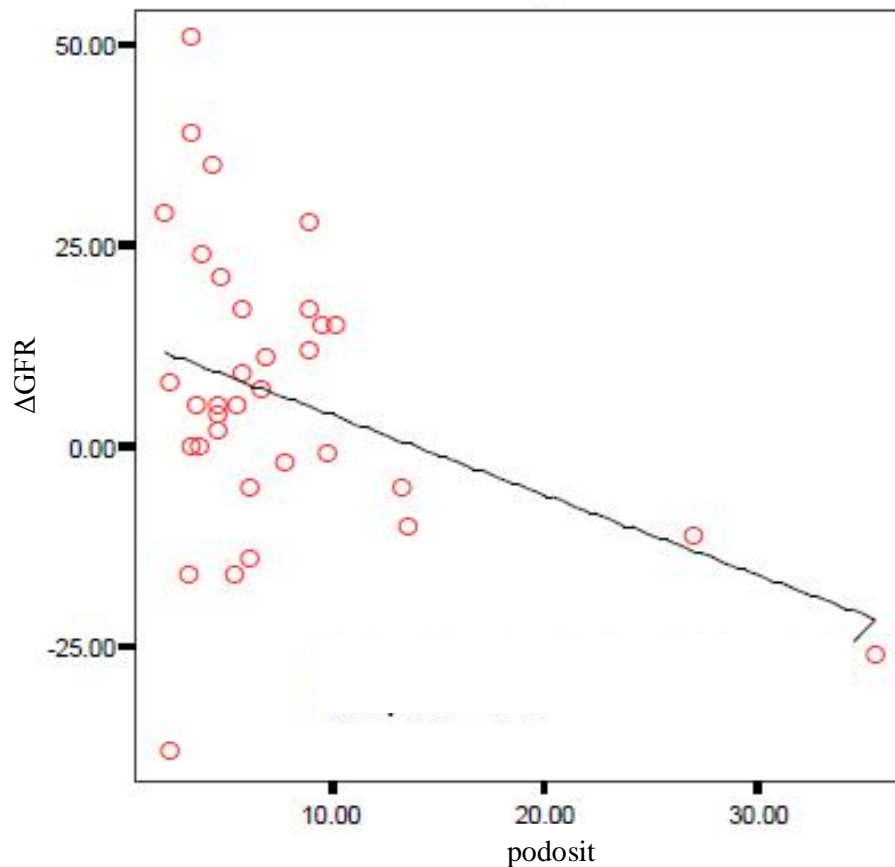
Tabel 5.1.2 Karakteristik laboratorium subyek penelitian

Karakteristik hasil laboratorium	Data Awal (n=53)	Data Akhir(n=34)
	rerata±SD	atau %
Haemoglobine (mg/dL)	13,2 ± 1,6 (10,3-15,6)	
Normal	50(94,3%)	
Anemia	3 (5,7%)	
Gula darah puasa (mg/dL)	163,5 ± 69,7 (92-365)	
Gula darah 2 jam PP (mg/dL)	226,3 ± 96,6 (96-519)	
hs-CRP (u/L)	0,15 ± 0,14 (0,01-0,52)	
Ureum serum(mg/dL)	29,8 ± 9,8 (15-56)	30,9 ± 15,3 (14-87)
Normal	52 (98,1%)	28 (82,35%)
Meningkat	1(1,9%)	6 (17,65%)
Kreatinin serum (mg/dL)	0,9 ± 0,2 (0,5-1,3)	0,9 ± 0,3 (0,5-1,7)
SGOT (U/L)	27,9 ± 19,7 (11-100)	
Normal	49(91,5%)	
Meningkat	4(7,5%)	
SGPT (U/L)	32,3 ± 35 (8-175)	
Normal	46 (86,8%)	
Meningkat	7 (13,2%)	
Albumin serum (gr/dL)	4,6 ± 0,3 (3,82-5,18)	
Albumin creatinin ratio	59,5 ± 107,8 (2-552)	114,7 ± 248,5 (3-1312)
Normal	28 (52,8%)	21 (61,76%)
Mikroalbuminuria	22 (41,5%)	10 (29,41%)
Makroalbuminuria	3 (5,7%)	3 (8,82%)
Kolesterol Total (mg/dL)	218 ± 48,3 (152-356)	
Kolesterol-HDL (mg/dL)	47,4 ± 10 (31-70)	
Kolesterol-LDL (mg/dL)	135,5 ± 32,8 (74-202)	
Trigliserida (mg/dL)	170 ± 115,4 (48-564)	
HbA ₁ C (%)	11,6 ± 3,4 (4,43-21,38)	
Podosit urin (/mg kreatinin)	6,9±6,3 (1,51-35,58)	

5.2 Hubungan nilai delta *Glomerular Filtration Rate* (ΔGFR) dengan Ekskresi Podosituri dan Subyek Penelitian Data Akhir

5.2.1 Hubungan nilai delta *Glomerular Filtration Rate* (ΔGFR) dengan Ekskresi Podosituri

Hubungan antara nilai delta *Glomerular Filtration Rate* (ΔGFR) dengan Ekskresi Podosituri tampak pada grafik dibawah ini:



Gambar.5.2.1 Grafik hubungan ΔGFR dengan kadar podosituria

Pada grafik diatas (gambar 5.2.1) hasil Uji korelasi antara delta GFR (Δ GFR) dengan kadar podosituria menunjukkan hubungan yang signifikan dengan nilai koefisien korelasi sebesar -0.364 dengan $p=0.017$ ($p<0.05$), dimana semakin tinggi kadar podosituria akan diikuti oleh penurunan delta GFR yang lebih besar, demikian sebaliknya.

Dari hasil uji regresi menunjukkan nilai signifikansi untuk podosit sebesar 0.034, artinya podosit mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap penurunan delta GFR (Δ GFR) (nilai koefisien regresi negatif).

5.2.2. Hubungan nilai delta *Glomerular Filtration Rate* (Δ GFR) dengan Subyek Penelitian Data Akhir

Dari subyek penelitian pada data akhir dilakukan evaluasi dalam kaitannya dengan nilai delta *Glomerular Filtration Rate* (Δ GFR). Korelasi antara nilai delta *Glomerular Filtration Rate* (Δ GFR) dengan karakteristik klinis dan laboratorium subyek penelitian data akhir tercantum pada tabel 5.3.1 dibawah ini:

Tabel 5.2.2.Korelasi antara nilai delta *Glomerular Filtration Rate* (Δ GFR) dengan karakteristik klinis dan laboratorium subyek penelitian data akhir.

Karakteristik klinis subyek (n=34)	Δ GFR (n=34)	P
Usia (tahun)	-0,24	0,17
Lama menderita DM (bulan)	-0,09	0,62
Indeks massa tubuh (kg/m^2)	0,19	0,28
TD sistolik (mmHg)	-0,15	0,4
TD diastolik (mmHg)	-0,14	0,43
Ureum serum(mg/dL)	-0,41	0,02*
Kreatinin serum (mg/dL)	-0,54	0,001*
Albumin creatinin ratio	-0,07	0,68

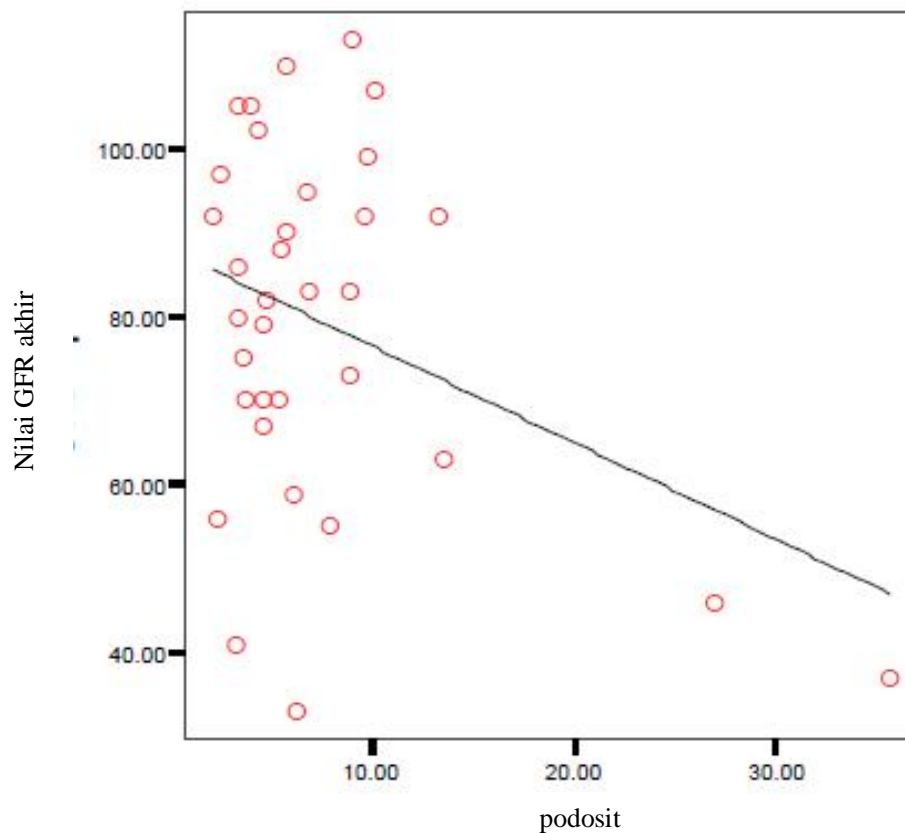
*Significancy $p<0,05$

Berdasarkan hasil uji korelasi diatas menunjukkan bahwa Δ GFR mempunyai hubungan yang signifikan dengan kadar ureum dan kreatinin dengan $p<0,05$

5.3 Hubungan Ekskresi Podosituri dengan nilai akhir *Glomerular Filtration Rate (GFR)*

Berdasarkan uji statistik didapatkan hubungan yang signifikan ($p < 0.05$, *Pearson correlation test*) antara rerata ekskresi podosituri dengan derajat nilai akhir GFR subyek penelitian ($p = 0.035$, dengan koefisien korelasi *Pearson* $r = -0,363$)

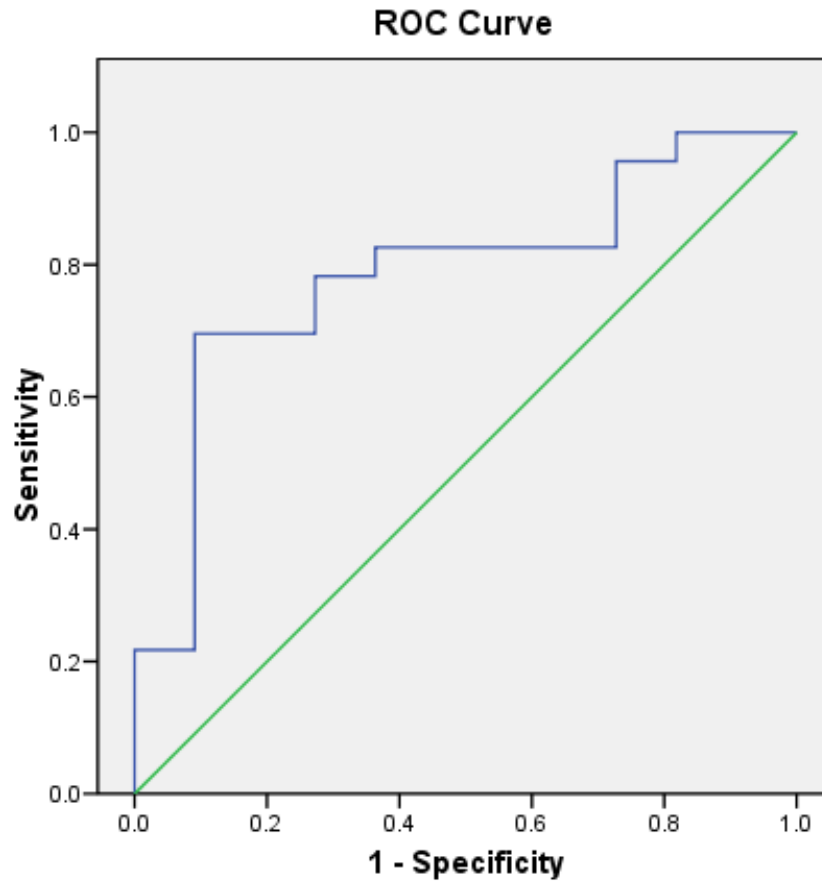
Dari hasil uji regresi menunjukkan nilai koefisiensi regresi negatif artinya podosit mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap nilai akhir GFR seperti tampak pada grafik dibawah ini:



Gambar 5.3. Grafik hubungan nilai akhir GFR dengan kadar podosituria

5.4 Analisa Ekskresi Podosituri pada Subyek Penelitian

Dari hasil pemeriksaan podosituri pada data yang diperoleh dari penelitian awal, dilakukan perhitungan titik cut off point untuk berdasarkan kurva ROC adalah 4.685, sehingga dapat dibagi menjadi 2 kategori, yaitu kategori Podosituri < 4.685 dan kategori Podosituri > 4.685



Gambar 5.4. Kurva ROC

Tabel 5.4.1. Analisa Ekskresi Podosituri pada Subyek Penelitian data akhir

Karakteristik subyek (n=34)	Podosit <4,685 (n=14)	Podosit >4,685 (n=20)	P
Usia (tahun)	56±9,5	57,8±10,6	0,601
Lama menderita DM (bulan)	42,8±45,9	92±76,6	0,026*
Indeks massa tubuh (kg/m ²)	25,72±4,36	25,6±4,3	0,946
Normal	6 (42%)	11(55%)	
Overweight	6 (42%)	7 (35%)	
Obese I	1(7%)	1 (5%)	
Obese II	1(7%)	1(5%)	
TD sistolik (mmHg)	130,7±17,3	140,3±18,4	0,137
Normal	5(36%)	4 (20%)	
Pre-hipertensi	3(21%)	3 (15%)	
Hipertensi st 1	5(36%)	7 (35%)	
Hipertensi st 2	1(7%)	6 (3%)	
TD diastolik (mmHg)	85,4±9,7	84,8±8,19	0,845
Normal	2(14%)	2(10%)	
Pre-hipertensi	5(36%)	9(45%)	
Hipertensi st 1	5(36%)	7(35%)	
Hipertensi st 2	2(14%)	2(10%)	
Ureum serum(mg/dL)	29,7±13	31,6±17	0,750
Normal	12(86%)	16(80%)	
Meningkat	2(14%)	4(20%)	
Kreatinin serum (mg/dL)	0,86±0,24	0,9±0,3	0,796
Albumin creatinin ratio	203,86±364	52,3±81,5	0,377
Normal	7(50%)	14(70%)	
Mikroalbuminuria	4(29%)	6(30%)	
Makroalbuminuria	3(21%)	0	

*Significancy $p < 0,05$

Pada tabel diatas menunjukkan bahwa data karakteristik lama DM didapatkan perbedaan yang bermakna antara pasien dengan podosituria <4,685 dan podosituria >4,685 dengan nilai signifikansi <0,05.

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Karakteristik Klinis dan Laboratorium Subyek Penelitian

Untuk hasil penelitian yang dilakukan pada pengambilan data akhir menunjukkan jenis kelamin, didapatkan jumlah wanita lebih banyak dibandingkan laki-laki yaitu sebanyak 22 (64,7%) adalah wanita dan 12 (35,3%) subyek berjenis kelamin pria. Peningkatan ini dikarenakan angka prevalensi obesitas pada wanita yang tinggi, selain itu juga *Gestasional Diabetes. Polycystic Ovary Syndrome* umumnya terjadi pada wanita premenopause dan terjadi resistensi insulin secara signifikan juga akan meningkatkan resiko untuk terjadinya DM tipe 2.^{34, 35}

Pada pemeriksaan subyek penelitian data akhir mempunyai tekanan darah sistolik dengan rerata hasil 136,3 dan tekanan darah diastolik dengan rerata hasil 85. Peningkatan jumlah pasien yang mengalami mikroalbuminuria dikarenakan kontrol tekanan darah yang buruk, hanya 10,6% pasien dengan mikroalbuminuria yang mencapai tekanan darah sesuai target (130/80mmHg atau dibawahnya).³⁶

6.2 Hubungan nilai delta *Glomerular Filtration Rate* (ΔGFR) dengan Ekskresi Podosituri dan Subyek Penelitian Data Akhir

Hiperglikemia merupakan faktor resiko yang penting terhadap berkembangnya ND.⁸ Penurunan densitas podosit pada pasien ND melalui 3 mekanisme, pertama penebalan glomerulus karena hiperglikemia, hipertensi intraglomerulus, dan atau peningkatan *growth factor* yang menimbulkan pemisahan FP podosit tanpa mengurangi jumlah podosit. Sel

podosit adalah sel dengan diferensiasi akhir, dimana terdapat peningkatan dalam ukuran glomerulus yang diinduksi oleh diabetes dalam peningkatan jumlah sel endotel dan jumlah sel mesangial, dan bukan dalam jumlah podosit. Respon podosit atas penebalan glomerulus meliputi pelebaran FP sebagai respon adaptif dalam menjaga fungsi *glomerular slit-pore*.³⁷

Mekanisme kedua adalah apoptosis, hal ini jelas bahwa podosit tidak mampu mengalami regenerasi atau proliferasi untuk mengkompensasi pelebaran area dipermukaan GBM,^{4, 37} dan apoptosis merupakan mekanisme yang menjelaskan adanya penurunan jumlah podosit perglomerulus pada diabetes. Mekanisme ketiga adalah adanya interaksi matriks podosit. Integrin dan $\alpha3\beta1$ -*dystroglycans* merupakan reseptor matriks spesifik yang melekatkan FP podosit pada GBM. Pada penelitian kultur podosit menunjukkan bahwa adanya glukosa yang tinggi dan induksi regangan akan menurunkan ekspresi $\alpha3\beta1$ -*integrin*. Pada penelitian in-vivo, penurunan ekspresi $\alpha3\beta1$ -*integrin* juga terjadi pada ND.³⁷

Fokus utama pada penelitian ultrastruktur densitas podosit pada diabetes adalah hiperglikemia sebagai stimulus awal, dengan adanya kemungkinan HT sistemik yang berdampak pada glomerulus juga dapat menyebabkan proses yang sama dalam menyebabkan stres mekanik dan *podosit loss* yang diikuti oleh pendataran dari GBM, kebocoran protein dan glomerulosklerosis dan *loss of nephrons*.^{37, 38}

Salah satu mekanisme terjadinya hiperfiltrasi adalah disebabkan oleh *impaired fasting glucose (IFG)*. Mekanisme hiperfiltrasi pada hiperglikemia tidak sepenuhnya dipahami, tetapi beberapa penelitian pada hewan coba dengan diabetes berperan dalam peningkatan reabsorpsi sodium melalui *sodium glucose cotransport* pada tubulus proximal ginjal. Peningkatan reabsorpsi sodium juga ditemukan pada pasien dengan *impaired fasting glucose (IFG)* dibandingkan dengan *fasting plasma glucose (FPG)* yang normal. Selain itu, faktor lain yang

berhubungan dengan hiperglikemia seperti nitric oxide, vascular inflammation, stres oksidatif atau aktivasi renin angiotensin dapat meningkatkan GFR.³⁹

Diabetes adalah penyebab utama terjadinya *End-Stage Renal Disease (ESRD)* dikarenakan ND berkembang pada 30-40 % pasien.^{8, 40} Secara garis besar fungsi spesifik podosit diklasifikasikan menjadi 6 yaitu^{12, 19} 1.) sebagai *size-barrier* terhadap protein; 2.) sebagai *charge-barrier* terhadap protein; 3.) peran dalam mempertahankan bentuk *capillary loop*; 4.) sebagai penyeimbang peningkatan tekanan intraglomerulus; 5.) fungsi dalam sintesis dan mempertahankan matriks GBM; dan 6.) memproduksi dan mensekresi VEGF yang diperlukan dalam integritas sel endothelial glomerulus. Sehingga tidak mengherankan jika terjadi gangguan pada satu atau lebih fungsi podosit akibat jejas akan menimbulkan proteinurin, biasanya *nephritic-range* dan seringkali disertai penurunan fungsi ginjal.

Pada penelitian ini hasil Uji korelasi antara delta GFR (Δ GFR) dengan kadar podosituria menunjukkan hubungan yang signifikan dengan nilai koefisien korelasi sebesar -0.364 dengan $p=0.017$ ($p<0.05$), dimana semakin tinggi kadar podosituria akan diikuti oleh penurunan delta GFR yang lebih besar, demikian sebaliknya. Dari hasil uji regresi juga menunjukkan nilai signifikansi untuk podosit sebesar 0.034, artinya podosit mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap penurunan delta GFR (nilai koefisien regresi negatif). Sedangkan dari hasil uji korelasi antara Δ GFR dengan subyek penelitian data akhir menunjukkan bahwa Δ GFR mempunyai hubungan yang signifikan dengan kadar ureum dan kreatinin dengan $p<0,05$ pada karakteristik subyek penelitian data akhir.

6.3 Hubungan Ekskresi Podosituri dengan nilai akhir *Glomerular Filtration Rate (GFR)*

Deteksi awal ND mungkin mengurangi progresifitas penyakit ginjal.³⁶ Penurunan GFR pada perkembangan ND dikaitkan dengan berkurangnya area permukaan kapiler yang disebabkan glomerulosklerosis. Glomerulosklerosis pada ND berhubungan dengan peningkatan volume glomerulus yang disebabkan oleh ekspansi volume mesangial dan hipertropi glomerulus untuk mempertahankan stabilitas permukaan kapiler pada fase awal ND. Sementara itu terjadi perubahan struktur dinding kapiler dengan penebalan GBM dan *foot processes* yang melebar yang menyebabkan penurunan *glomerular ultrafiltration capacity per unit area* pada permukaan kapiler.⁴¹ Berdasarkan uji statistik didapatkan hubungan yang signifikan ($p < 0.05$, *Pearson correlation test*) antara ekskresi podosituri dengan nilai akhir GFR subyek penelitian ($p = 0.035$, dengan koefisien korelasi *Pearson* $r = -0,363$) dan dari hasil uji regresi menunjukkan nilai koefisiensi regresi negatif artinya podosit mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap nilai akhir GFR.

6.4 Analisa Ekskresi Podosituri pada Subyek Penelitian Data Akhir

Pencegahan awal ND (pre *ESRD*) tergantung pada beberapa faktor yaitu: kontrol gula darah, lama menderita, tekanan darah.³⁶ Progresifitas penyakit ginjal diabetes tahap awal ditandai dengan hiperfiltrasi dan mikroalbuminuria (30-300mg albumin/g kreatinin), ketahap lanjut makroalbuminuria (> 300 mg albumin/g kreatinin), penurunan *Glomerular Filtration Rate (GFR)*, yang akan berakhir pada *End-Stage Renal Disease (ESRD)*.³⁶ ND ditandai dengan adanya albuminuria yang progresif diikuti dengan penurunan fungsi ginjal yang berakhir dengan *end stage renal disease* yang terjadi setelah 5-15 tahun.⁴² Dalam studi Pima indian, didapatkan lebih dari 50% terjadi proteinuria terjadi setelah 20 tahun. Pada tahun pertama onset dari DM terjadi *glomerular hyperperfusion* dan *renal hypertrophy* yang akan

menyebabkan peningkatan *Glomerular Filtration Rate (GFR)*. Dalam 5 tahun perjalanan DM, terjadi penebalan *Glomerular Basement Membrane (GBM)*, hipertropi glomerulus dan ekspansi volume mesangial.⁴³ Kejadian *ESRD* yang disebabkan diabetes tahun 2001 di Amerika sebanyak 148 juta populasi dengan 44,3% dari populasi tersebut memerlukan *renal replacement therapy*.⁴ Pada penelitian Meyer dkk menunjukkan podosit memperkirakan derajat albuminuria setelah 4 tahun, dan digunakan sebagai prediktor progresifitas dari ND.⁶

⁴⁴ Pada hasil data karakteristik lama DM didapatkan perbedaan yang bermakna antara pasien dengan podosituria <4,685 dan podosituria >4,685 dengan nilai signifikansi <0,05. Berdasarkan penelitian Sibasish dkk menunjukkan jumlah pasien diabetes yang beresiko terjadinya ND dengan podosituri dan mikroalbuminuri semakin meningkat seiring dengan lama menderita DM. Ini membuktikan podosituri dapat digunakan sebagai prediktor ND pada pasien DM tipe 2.⁴⁴

Podosit berperan dalam terjadinya proteinuria dan glomerulosklerosis.⁴ Podosit merupakan sel epitelial yang mengalami diferensiasi terminal dengan spesifikasi yang tinggi dan mempunyai morfologi selular yang kompleks.^{4, 11} Podosit tidak dapat mengalami regenerasi apabila terjadi pelepasan.⁴ Karena podosit yang matur kemampuan regenerasi dan proliferasinya rendah, maka podosit yang tersisa tidak dapat menutup semua permukaan luar GBM, sehingga sel-sel *Epithelial Parietal Capsula Bowman's* mudah bertemu dengan GBM dan membentuk *adhesi* yang mengarah pada terbentuknya *scarring* glomerulus, hingga menyebabkan *Sclerosis Glomerulus Segmental* dan akibat lebih lanjut menjadi penyakit ginjal tahap akhir.¹²

BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

- Podosituri berhubungan dengan penurunan laju filtrasi glomerulus pada pasien Diabetes Mellitus Type 2

7.2 Kelemahan Penelitian

- Penelitian ini memiliki jumlah sampel penelitian yang sedikit
- Pemeriksaan ekskresi podositurin secara imunohistokimia dengan memakai metoda ELISA
- Perhitungan GFR dengan menggunakan serum kreatinin

7.3 Saran

- Penelitian dilakukan dalam jumlah sampel penelitian yang lebih banyak
- Pemeriksaan ekskresi podositurin dengan metoda Imunofluoresensi
- Perhitungan GFR dilakukan dengan pemeriksaan inulin.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jim B. Dysregulated Nephron in Diabetic Nephropathy of Type 2 Diabetes: A Cross Sectional Study. *Plos ONE*. 2012 17 May 2012;7(5):1-7.
2. Eid AA, Gorin Y, M.Fagg B, Maalouf R, Barnes JL, Block K, et al. Mechanisms of Podocyte Injury in Diabetes Role of Cytochrome P450 and NADPH Oxidases. *Diabetes*. 2009;58:1201-11.
3. Satchell SC, J.E.Tooke. What is The Mechanism of Microalbuminuria in Diabetes: a Role for the Glomerular Endothelium? *Diabetes*. 2008;51:714-25.
4. Obineche EN, Adem A. Update in Diabetic Nephropathy. *Int J Diabetes & Metabolism*. 2005;13:1-9.
5. White KE, W.Bilous R, Marshall SM, Nahas ME, Remuzzi G, Piras G, et al. Podocyte Number in Normotensive Type 1 Diabetic Patients with Albuminuria. *Diabetes*. 2002;51:3083-9.
6. Meyer TW, P.H.Bennett, Nelson RG. Podocyte Number Predicts Long-term Urinary Albumin Excretion in Pima Indians with Type II Diabetes and Microalbuminuria. *Diabetologia*. 1999;42:1341-4.
7. Hara M, Yanagihara T, Itoh M, Matsuno M, Kihara I. Immunohistochemical and Urinary markers of Podocyte Injury. *Pediatr Nephrol*. 1998;12:43-8.
8. Schena FP, Gesualdo L. Pathogenetic Mechanisms of Diabetic Nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16:530-3.
9. Pavenstadt H. Roles of The Podocyte in Glomerular Function. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2000;278:F173-F9.
10. Vestra MD, Masiero A, Roiter AM, Saller A, Crepaldi G, Fioretto P. Is Podocyte Injury Relevant in Diabetic Nephropathy? Studies in Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2003;52.
11. Pardede SO. Podosit dan Slit Diafragma serta Perannya. *Sari Pediatri*. 2004;6:119-24.
12. Shankland S. The Podocyte's response to Injury : Role in Proteinuria and Glomerulosclerosis. *Kidney Int*. 2006;69:2131-47.
13. Hunley TE, Kon V, Ichikawa I. Glomerular Circulation and Function. *Pediatr Nephrol*. 2009;31-64.
14. Leeuwis JW, Nguyen TQ, Dendooven A, Kok RJ, Goldschmeding R. Targeting Podocyte-associated Diseases. *Elsevier Journal*. 2010;62:1325-36.
15. Jalanko H. Congenital Nephrotic Syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2009;24:2121-8.
16. Mundel P, Shankland SJ. Podocyte Biology and Response to Injury. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13:3005-15.
17. Patari A. Nephron in Diabetes and in Diabetes-Related Conditions: Emphasis on urinary proteins immunoreactive with nephron antibodies 2005:1-67.
18. Barisoni L, Mundel P. Podocyte Biology and The Emerging Understanding of Podocyte Diseases. *Am J Nephrol* 2003;23:353-60.
19. Sabljari M. Podocyte injury in glomerular diseases. *J Int Fed Clin Chem*. 2009:20-6.
20. Susztak K, P.Bottinger E. Diabetic Nephropathy: a Frontier for Personalized Medicine *J Am Soc Nephrol*. 2006;17:361-7.
21. Brownlee M, Aiello LP, Cooper ME, Vinik AI, Nesto RW, Boulton AJM. Complications of Diabetes Mellitus. Kronenberg HM, Melmed S, polonsky KS, Larsen PR, editors. Philadelphia PA: Saunders Elsevier; 2008.

22. Yu D, Petermann A, Kunter U, Rong S, Shankland SJ, Floege J. Urinary Podocyte loss is a More Specific Marker of Ongoing Glomerular Damage than Proteinuria. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16:1733-41.
23. Dahlan MS. Besar Sampel dan Cara Pengambilan Sampel dalam Penelitian Kedokteran dan Kesehatan. Dahlan MS, editor. Jakarta: Salemba Medika; 2009.
24. Kitabchi AE, Umpierrez GE, Miles JM, Fisher JN. Standards of Medical Care in Diabetes. *diabetes care*. 2011;34:S11-S61.
25. Belfiore F, Mogensen C. Diet and Modification of Nutrient Absorption, New Concept in Diabetes and Its Treatment. Iannello S, editor. Basel: Karger; 2000.
26. Chobanian AV. Seventh Report of The Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. Bethesda: NHLBI2007.
27. Gheorghiade M, Filippatos GS, Felker GM. Diagnosis and Management of Heart Failure. Bonow RO, L.Mann D, Zipes DP, Libby P, editors. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2011.
28. Pagana KD, Pagana TJ. Mosby's: Diagnostic and Laboratory Test Reference. Pagana KD, Pagana TJ, editors. St.Louis: Mosby; 2007.
29. Meng MV, Stoller ML, Walsh TJ. Urologic Disorders:Genitourinary Tract Infections Papadakis MA, McPhee SJ, editors. New York: McGraw-Hill; 2013.
30. Zheng Z, Jia J, Li D, Lu Z, Lin S. MiR-124 is Related to Podocyte Adhesive Capacity Damage in STZ-Induced Uninephrectomized Diabetic Rats. *Kidney Blood Press Res*. 2013;37:422-31.
31. Lemley KV, Richard, Lafayette, Safai M, Derby G, Blouch K, et al. Podocytopenia and Disease Severity in IgA Nephropathy. *Kidney Int*. 2002;61:1475-85.
32. Stevens LA, Levey AS. Measured GFR as a confirmatory test for estimated GFR. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:2305-13.
33. Delanaye P, Cavalier E, Mariat C, Maillard N, Marie J. MDRD or CKD-EPI Study Equations for Estimating Prevalence of Stage 3 CKD in Epidemiological Studies: Which Difference?Is This Difference Relevant? . *BMC Nephrology*. 2010;11:1-7.
34. Canoy D, Buchan I. Challenges in obesity epidemiology. *Int J Obes*. 2007;8:1-11.
35. Powers AC. Diabetes Mellitus in: Harrison's Principles of Internal Medicine. 17 ed. Fauci AS, Kasper DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J, editors. New York: McGraw-Hill; 2008.
36. Weil EJ, Nelson RG. Diabetic kidney Disease in Transitional and Disadvantaged Populations. P.Cortes, CE M, editors. Totowa NJ: Humana Press Inc.; 2006.
37. Jerums G, Panagiotopoulos S, MacIsaac R. Podocytes and Diabetic Nephropathy. Cortes P, C.E.Mogensen, editors. Totowa NJ: Humana Press Inc.; 2006.
38. Kriz W, Gretz N. Progression of Glomerular Diseases: Is The Podocyte The Culprit? *Kidney int*. 1998;54:687-97.
39. Melsom T, Dorte U, Ole, Jenssen T, Njolstad I. Impaired Fasting Glucose is Associated with Renal Hyperfiltration in the General Population. *Diabetes Care*. 2011;34:1546-51.
40. Alsaad, Herzenberg. Distinguishing Diabetic Nephropathy from Other Causes of Glomerulosclerosis: an Update. *J Clin Pathol*. 2007;60:18-26.
41. Pagtalunan ME, Miller PL, Jumping S, Nelson RG, Myers BD. Podocyte Loss and Progressive Glomerular Injury in Type II Diabetes. *J Clin Invest* 1997;99:342-8.
42. Siu B, Saha J. Reduction in podocyte density as a pathologic feature in early diabetic nephropathy in rodents: Prevention by lipoic acid treatment. *BMC Nephrology*. 2006;1-11.
43. Alvin PC. Diabetes Mellitus in: Harrison's Endocrinology. Jameson JL, editor. New York: McGraw-Hill; 2010.

44. Sahoo S, Mukherjee B, Patra S. Podocyturia-a new marker for diabetic nephropathy. International Journal of Bioassays 2012:667-8.



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-I (PPDS-I)
ILMU PENYAKIT DALAM
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIBRAW–RSUD Dr. SAIFUL ANWAR**

Jl. Jaksa Agung Suprpto No. 2 Malang 65111

Telp/Fax. (0341) 357663. e-mail : interne_rssa@yahoo.com

LEMBAR INFORMASI SUBYEK PENELITIAN

"Peran Podosituri terhadap Penurunan Laju Filtrasi Glomerulus pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2"

Penelitian ini dilakukan pada subyek dengan Diabetes Mellitus tipe-2 yang berkunjung di poliklinik Endokrin-Metabolik RSUD Dr. Saiful Anwar Malang pada saat penelitian ini dikerjakan. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur jumlah podosituri subyek (pasien) Diabetes Mellitus Tipe 2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam membuktikan bahwa jumlah podosit dalam urin pada DM tipe 2 dapat dipakai sebagai prediktor terjadinya progresifitas terjadinya nefropati diabetik.

Subyek yang telah mengerti dan setuju untuk mengikuti penelitian ini akan diminta untuk menandatangani Lembar Persetujuan Penelitian (terlampir). Subyek oleh peneliti akan diwawancarai, mendapatkan pemeriksaan fisik serta pemeriksaan darah dan urin. Subyek tidak akan dikenakan biaya berkaitan dengan penelitian ini.

Semua pemeriksaan yang dilakukan pada subyek tidak berbahaya dan tidak memberikan pengaruh buruk bagi kesehatannya. Nama dan jati diri subyek serta hasil pemeriksaan akan tetap dirahasiakan.

Seandainya subyek tidak menyetujui cara ini maka subyek tidak dapat mengikuti penelitian ini sama sekali. Dalam hal ini subyek tidak akan dikenakan sanksi apapun. Subyek dapat menghubungi peneliti bila membutuhkan informasi atau mendapatkan masalah berkaitan dengan penelitian ini kepada: dr.Dyah Maya Sari (no. HP:081233023323)

Tanggal.....

Subyek/Partisipan:

Nama:.....

Catatan:

- Lembar 1 untuk pasien
- Lembar 2 untuk arsip peneliti



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-I (PPDS-I)
ILMU PENYAKIT DALAM
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIBRAW–RSUD Dr. SAIFUL ANWAR**

Jl. Jaksa Agung Suprpto No. 2 Malang 65111

Telp/Fax. (0341) 357663. e-mail : interne_rssa@yahoo.com

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN
UNTUK BERPARTISIPASI DALAM PENELITIAN**

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama :
Jenis Kelamin : (Laki-laki/Perempuan)
Usia :
Alamat :
No. Telepon/HP :

Saya telah membaca lembar informasi penelitian yang berjudul: "**Peran Podosituri terhadap Penurunan Laju Filtrasi Glomerulus pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2**" dengan seksama dan telah mengerti penjelasan dari peneliti tentang pelaksanaan dari penelitian ini.

Saya telah mengetahui manfaat dari hasil penelitian ini dan menyatakan bersedia untuk ikut serta dalam penelitian ini. Demikian pernyataan ini dibuat dengan sebenarnya.

Tanggal.....

Subyek/Partisipan:

Nama:.....

Peneliti:

Nama:.....

Catatan:

- Lembar 1 untuk pasien
- Lembar 2 untuk arsip peneliti

Lampiran 4

Criteria for the Diagnosis of Diabetes²⁴

A1C $\geq 6.5\%$. The test should be performed in a laboratory using a method that is NGSP certified and standardized to the DCCT assay.*

or

FPG ≥ 126 mg/dl (7.0 mmol/l). Fasting is defined as no caloric intake for at least 8 h.*

or

2-h plasma glucose ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/l) during an OGTT. The test should be performed as described by the World Health Organization, using a glucose load containing the equivalent of 75 g anhydrous glucose dissolved in water.*

or

In a patient with classic symptoms of hyperglycemia or hyperglycemic crisis, a random plasma glucose ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/l)

*In the absence of unequivocal hyperglycemia, result should be confirmed by repeat testing.

Classification of Blood Pressure for Adults²⁶

Blood pressure Classification	SBP mmHg	DBP mmHg
Normal	<120	and <80
Prehypertension	120–139	or 80–89
Stage 1 Hypertension	140–159	or 90–99
Stage 2 Hypertension	>160	or >100

SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure

The International Classification of Adult Underweight, Overweight and Obesity according to BMI²⁵

Criteria	Classification BMI (kg/m ²)
• Underweight	<18,50
• Normal	18,50-24,99
• Overweight	$\geq 25,00$
• Obese	$\geq 30,00$
• Obese class I	30,00-34,99
• Obese class II	35,00-39,99
• Obese class III	$\geq 40,00$

Clinical Features of Heart Failure of Framingham Criteria for Diagnosis of Heart Failure²⁷

Parameter	Features
• Major criteria	Paroxysmal Nocturnal Dyspnea or Orthopnea Jugular Venous Distention (or CVP>16mmHg) Rales or Acute Pulmonary Edema Cardiomegaly Hepatojugular reflux Response to diuretic (weight loss >4,5kg in 5 days)
• Minor criteria	Ankle edema Nocturnal cough Exertional dyspnea Pleural effusion Vital capacity <two thirds of normal hepatomegaly Tachycardia (>120bpm)

Memenuhi kriteria diagnosis jika: 2 kriteria mayor atau 1 kriteria mayor + 2 kriteria minor

Definition of Abnormalities in Albuminuria Excretion²⁴

Category	Spot collection (g/mg creatinine)
Normal	<30
Microalbuminuria	30–299
Macro (clinical)-albuminuria	≥300